



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM HORTICULTURA TROPICAL

JULIANA DE SOUZA COUTINHO

SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA
Apis mellifera **(HYMENOPTERA: APIDAE) APÓS EXPOSIÇÃO**
DIRETA E ORAL A ANTRANILAMIDAS E ESPINOSINAS

POMBAL –PB
2022

JULIANA DE SOUZA COUTINHO

**SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA *Apis mellifera*
(HYMENOPTERA: APIDAE) APÓS EXPOSIÇÃO DIRETA E ORAL A
ANTRANILAMIDAS E ESPINOSINAS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical da Universidade Federal de Campina Grande em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre em Horticultura Tropical, linha de pesquisa: Práticas Culturais em Sistemas de Produção de Plantas Hortícolas.

Orientador: Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa

POMBAL-PB

2022

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS POMBAL/CCTA/UFCG**

JULIANA DE SOUZA COUTINHO

**SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA *Apis mellifera*
(HYMENOPTERA: APIDAE) APÓS EXPOSIÇÃO DIRETA E ORAL A
ANTRANILAMIDAS E ESPINOSINAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical para a obtenção de Mestre em Horticultura Tropical.

Aprovada em: 11/03/2022

BANCA EXAMINADORA:



Orientador: Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa
UAGRA/CCTA/UFCG



Examinador interno: Prof. Dr. Fernandes Antônio de Almeida
UAGRA/CCTA/UFCG



Examinador externo: Dr. Tiago Augusto Lima Cardoso
UAGRA/CCTA/UFCG

Aos meus sobrinhos, Anna Beatriz, Anna Cecília e Sávio

Neto que encorajam-me a prosseguir ...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e fortalecer.

Aos meus pais, pela educação e pelos princípios, sempre apoiaram meu crescimento profissional e pessoal, dando todo suporte para a concretização desse sonho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ewerton Marinho, por ter confiado e acreditado em mim. Professor que prioriza as relações humanas, sempre muito prestativo e atencioso, cujos ensinamentos levarei por toda minha vida. Muito obrigada por todo apoio, profissionalismo e dedicação.

A todos os integrantes do grupo de pesquisa GEENTO, Carlos Henrique, Caio Araújo, Emanoely Karoliny, Mylena Linhares, Rutte Lemos, Rafael Silva e Vitor Rodrigues por todo apoio e dedicação na realização dos experimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical – UFCG e todos os seus professores e colaboradores. Em especial, ao técnico de laboratório Tiago Augusto Lima por todo apoio durante a pesquisa e pelos conselhos profissionais e pessoais.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Ilustração da torre de voo e classificação dos estratos, de acordo com o comportamento das abelhas na avaliação da atividade de voo 33
- Figura 2.** Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta aos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantroniliprole, Pombal – PB, 2022 34
- Figura 3.** Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada aos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantroniliprole, Pombal – PB, 2022 **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 4.** Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada e pulverização direta aos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantroniliprole, Pombal – PB, 2022..... 36
- Figura 5.** Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após pulverização direta com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022 37
- Figura 6.** Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após ingestão de dieta contaminada com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022 38
- Figura 7.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Ciantraniliprole, 2022..... 40
- Figura 8.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta ao inseticida Ciantraniliprole, 2022..... 41
- Figura 9.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Clorantraniliprole, 2022..... 42
- Figura 10.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta ao inseticida Clorantraniliprole, 2022 43

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Ilustração da torre de voo e classificação dos estratos, de acordo com o comportamento das abelhas na avaliação da atividade de voo..... 56
- Figura 2.** Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta aos inseticidas Espinetoram e Espinosade, Pombal – PB, 2022 57

- Figura 3.** Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada aos inseticidas Espinetoram e Espinosade, Pombal – PB, 2022. **Error! Bookmark not defined.** 8
- Figura 4.** Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada e pulverização direta aos inseticidas Espinetoram e Espinosade, Pombal – PB, 2022. 59
- Figura 5.** Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após pulverização direta contaminada com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022 60
- Figura 6.** Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após dieta contaminada com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022 61
- Figura 7.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após pulverização direta ao inseticida Espinetoram, 2022..... 62
- Figura 8.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Espinetoram, 2022 63
- Figura 9.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após pulverização direta ao inseticida Espinosade, 2022..... 64
- Figura 10.** Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Espinosade, 2022 65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Inseticidas e respectivas doses avaliadas com relação à toxicidade sobre abelhas <i>Apis mellifera</i> , expostas a pulverização direta e por ingestão de dieta contaminada, Pombal – PB, 2022.....	30
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 2. Inseticidas e respectivas doses avaliadas com relação à toxicidade sobre abelhas <i>Apis mellifera</i> , expostas a pulverização direta e por ingestão de dieta contaminada, Pombal – PB, 2022.....	53
--	----

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO GERAL.....	x
GENERAL ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 IMPORTÂNCIA DA ABELHA <i>Apis mellifera</i> SOB PERSPECTIVA ECOLÓGICA, ECONÔMICA E AGRÍCOLA.....	14
2.2 DECLÍNIO NA POPULAÇÃO DE POLINIZADORES EM ÁREAS AGRÍCOLAS.....	15
2.3 TOXICIDADE DE INSETICIDAS SOBRE ABELHAS COM ÊNFASE NA ESPÉCIE <i>Apis mellifera</i>	17
2.3.1 Toxicidade de Antranilamidas/diamidas antranílicas sobre <i>Apis mellifera</i>	17
2.3.2 Toxicidade de Espinosinas sobre <i>Apis mellifera</i>	19
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
CAPÍTULO 1.....	26
SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA <i>Apis mellifera</i> APÓS EXPOSIÇÃO DIRETA E ORAL A DIFERENTES DOSES DOS INSETICIDAS CLORANTRANILIPROLE E CIANTRANILIPROLE.....	26
1 INTRODUÇÃO.....	28
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1 LOCAL DOS EXPERIMENTOS.....	29
2.2 OBTENÇÃO E SELEÇÃO DOS INSETOS PARA EXPERIMENTAÇÃO.....	29
2.3 CONDUÇÃO DOS BIOENSAIOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	29
2.3.1 Bioensaio 1: pulverização direta dos inseticidas sobre <i>Apis mellifera</i>	31
2.3.2 Bioensaio 2: fornecimento de dieta contaminada com os inseticidas para <i>Apis mellifera</i>	31
2.3.3 Avaliação da capacidade de voo de <i>Apis mellifera</i> após exposição direta e oral aos inseticidas.....	32

2. 4 ANÁLISE DOS DADOS.....	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4 CONCLUSÕES.....	445
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	456
CAPÍTULO 2.....	49
SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA <i>Apis mellifera</i> APÓS EXPOSIÇÃO DIRETA E ORAL A DIFERENTES DOSES DOS INSETICIDAS ESPINETORAM E ESPINOSADE.....	49
1 INTRODUÇÃO.....	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1 LOCAL DOS EXPERIMENTOS.....	52
2.2 OBTENÇÃO E SELEÇÃO DOS INSETOS PARA EXPERIMENTAÇÃO.....	52
2.3 CONDUÇÃO DOS BIOENSAIOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	52
2.3.1 Bioensaio 1: pulverização direta dos inseticidas sobre <i>Apis mellifera</i>	54
2.3.2 Bioensaio 2: Fornecimento de dieta contaminada com os inseticidas para <i>Apis mellifera</i>	55
2.3.3 Avaliação da capacidade de voo de <i>Apis mellifera</i> após exposição direta e oral aos inseticidas..	55
2.4 ANÁLISE DOS DADOS.....	56
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4 CONCLUSÕES.....	67
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

RESUMO GERAL

COUTINHO, J. S. **Sobrevivência e Capacidade de Voo da abelha *Apis mellifera* (Hymenoptera: apidae) após exposição direta e oral a Antranilamidas e Espinosinas.** 2022. 69 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2022¹.

Abelhas são consideradas o grupo de polinizadores mais importantes, especialmente a espécie *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Todavia, o uso excessivo de agrotóxicos é apontado como responsável pela mortandade de abelhas em áreas agrícolas em escala global. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de doses comerciais dos inseticidas Clorantraniliprole, Ciantraniliprole, Espinetoram e Espinosade, recomendados para diversas culturas, na sobrevivência e capacidade de voo das operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera*, amplamente usados no Brasil. Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia (sala climatizada a 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h) do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *Campus* Pombal-PB, Brasil. Para a execução do trabalho foram utilizadas operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera*, provenientes de três colmeias instaladas em caixas de madeira do tipo Langstroth, pertencentes ao apiário do CCTA/UFCG. Os níveis de toxicidade foram avaliados através de bioensaios, correspondentes a duas formas de exposição: pulverização direta sobre as abelhas e dieta contaminada utilizando cinco doses comerciais, registradas para o controle de pragas em diversas culturas. Conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições para cada tratamento. Foram realizados teste de sobrevivência e teste de voo. Os inseticidas Espinetoram (Delegate[®]) e Espinosade (Tracer[®]), pertencentes ao grupo químico Espinosina, foram extremamente tóxicos para *A. mellifera* via ingestão da dieta contaminada e via pulverização direta, independente da dose utilizada. Após a exposição às espinosinas, a atividade motora das abelhas *A. mellifera* foi prejudicada, sendo observado tremores e paralisia. Os inseticidas pertencentes ao grupo químico Antranilamida Clorantraniliprole (Premio[®]) e Ciantraniliprole (Benevia[®]), ocasionaram baixa toxicidade sobre as abelhas, independente do modo de exposição e da dose utilizada, sendo, portanto, menos nocivos ao polinizador. Todos os inseticidas avaliados, pertencentes a dois grupos químicos, afetaram a atividade de voo de *A. mellifera*, independentemente do modo de exposição e dose avaliada. Esses dados irão auxiliar em projetos que envolvam o manejo sustentável, consequentemente a conservação desses polinizadores em áreas agrícolas.

Palavras-chave: *Apis mellifera*. Inseticidas. Toxicidade. Mortalidade.

¹Orientador: Prof. Ewerton Marinho da Costa, CCTA/UFCG.

GENERAL ABSTRACT

COUTINHO, J. S. Survival and flight ability of the *Apis mellifera* bee (Hymenoptera: apidae) after direct and oral exposure to anthranilamides and spinosyns. 2022. 69 f. Dissertation (Master's in Tropical Horticulture) - Federal University of Campina Grande, Pombal, 2022¹.

Bees are considered the most important group of pollinators, especially the species *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). However, the excessive use of pesticides is identified as responsible for the death of bees in agricultural areas on a global scale. The present study aimed to evaluate the effect of commercial doses of the insecticides Chlorantraniliprole, Ciantraniliprole, Espinetoram and Espinosade, recommended for different cultures, on the survival and flight capacity of adult workers of the Africanized bee *A. mellifera*, widely used in Brazil. The studies were carried out in the Entomology Laboratory (heated room at 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH and 12 h photophase) of the Center for Agro-Food Science and Technology (CCTA) of the Federal University of Campina Grande (UFCG), Campus Pombal -PB, Brazil. For the execution of the work, adult workers of the Africanized bee *A. mellifera* were used, coming from three hives installed in Langstroth-type wooden boxes, belonging to the CCTA/UFCG apiary. Toxicity levels were evaluated through bioassays, corresponding to two forms of exposure: direct spraying on bees and contaminated diet using five commercial doses, registered for pest control in different cultures. Conducted in a completely randomized design, with 10 replications for each treatment. Survival test and flight test were performed. The insecticides Espinetoram (Delegate[®]) and Spinosad (Tracer[®]), belonging to the chemical group Espinosina, were extremely toxic to *A. mellifera* via ingestion of contaminated diet and via direct spraying, regardless of the dose used. After exposure to spinosyns, the motor activity of *A. mellifera* bees was impaired, and tremors and paralysis were observed. The insecticides belonging to the chemical group Antranilamide, Chlorantraniliprole (Premio[®]) and Ciantraniliprole (Benevia[®]), caused low toxicity to bees, regardless of the exposure method and dose used, being, therefore, less harmful to the pollinator. All insecticides evaluated, belonging to two chemical groups, affected the flight activity of *A. mellifera*, regardless of the exposure mode and dose evaluated. These data will help in projects involving sustainable management, consequently the conservation of these pollinators in agricultural areas.

Keywords: *Apis mellifera*. Insecticides. Toxicity. Mortality.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A maioria das espécies vegetais, cultivadas ou nativas, são polinizadas por animais e dependem destes para sua reprodução (ROUBIK, 2018). Além disso, 75 % das culturas agrícolas são beneficiadas pela polinização animal (KLEIN et al. 2007), sendo as abelhas consideradas o grupo mais importante de polinizadores, visitando mais de 90% das principais culturas no mundo (POTTS et al. 2016). Dentro desse grupo, destaca-se a espécie *Apis mellifera* Linneaus (Hymenoptera: Apidae) como um dos polinizadores mais eficientes (GIANNINI et al., 2015; CRIDLAND et al., 2017). É uma das espécies mais utilizadas para a polinização devido ao seu fácil manejo, tamanho de suas colônias, eficiência e rapidez durante esse processo comparado aos outros polinizadores (PIRES et al., 2016; KLEIN et al., 2020).

Porém, diversos pesquisadores indicam um declínio destes polinizadores em várias partes do planeta (GALLAI et al., 2009; KOVÁCS HOSTYÁNSZKI et al. 2017). Múltiplos fatores contribuem para que isso aconteça, como por exemplo, modificação do habitat, plantio em monocultura, ataque de pragas, redução da oferta de alimento e uso indiscriminado de pesticidas, sendo este o principal motivo para o desaparecimento dos polinizadores (KEARNS; INOUE, 1997; DEVINE; FURLONG, 2007).

As abelhas se alimentam em grandes áreas ao redor de suas colmeias e, portanto, são susceptíveis de serem expostas a vários pesticidas diariamente (BARASCOU et al., 2021), por meio do contato direto com gotículas de pulverização, contato com resíduos dos produtos nas plantas e também pela ingestão de alimento contaminado (TANING et al., 2019; VARIKOU et al., 2019). Toda essa exposição aos pesticidas pode ocasionar a morte das abelhas ou provocar efeitos subletais, como diminuição na capacidade de forrageamento, efeito na longevidade do inseto, redução no aprendizado, perda de memória e distúrbios comportamentais, afetando suas atividades motoras (WU-SMART; SPIVAK, 2016).

Portanto, é fundamental o desenvolvimento de pesquisas visando avaliar os efeitos letais e subletais de inseticidas agrícolas sobre as abelhas, contribuindo para conservação desses polinizadores em campo. Em relação as Antranilamidas e Espinosinas utilizadas na agricultura brasileira, poucos trabalhos foram realizados. Ratnakar et al. (2017) constataram que após 24 horas de exposição o inseticida Clorraniliprole na dose de 0,15 ml/L, apresenta baixa toxicidade sobre *A. mellifera*, ocasionando 14,46% de mortalidade. Porém, Gomes et al. (2020) relataram que, apesar da baixa mortalidade proporcionada pelo Clorraniliprole, ele provoca alterações na capacidade de voo e em genes que regulam o sistema imunológico da abelha. Já

em relação ao grupo das Espinosinas, Carmo (2017) avaliando o inseticida Espinetoram, constatou uma taxa de 100% de mortalidade das abelhas, expostas ao inseticida por pulverização direta, após 48h de avaliação. Lopes et al. (2018) demonstraram que as operárias de *A. mellifera* expostas oralmente a dose de 0,816 mg/ mL do inseticida Espinosade, sofreram 100% de mortalidade.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a sobrevivência e capacidade de voo da abelha africanizada *A. mellifera* após exposição direta e oral a inseticidas pertencentes aos grupos químicos Antranilamida e Espinosina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA DA ABELHA *Apis mellifera* SOB PERSPECTIVA ECOLÓGICA, ECONÔMICA E AGRÍCOLA

As abelhas são consideradas os principais agentes polinizadores tanto em ambientes naturais como agrícolas. Sendo assim, são fundamentais na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas e na produção de alimentos (KLEIN et al., 2020). Neste contexto, destaca-se a espécie *A. mellifera*, considerada uma espécie exótica no Brasil, que foram introduzidas no país por imigrantes europeus na década de 1850 (*A. m. mellifera*, *A. m. ligustica*, *A. m. carnica* e *A. m. caucásica*) e que se miscigenaram com abelhas africanas (*A. m. scutellata* e *A. m. adansonii*) trazidas na década de 1950 para fins de melhoramento genético, pelo governo brasileiro. Desse cruzamento, surgiu o poli híbrido conhecido como abelha africanizada (SANTOS; MENDES, 2016; GOMES et al., 2019; SILVA et al., 2020). No qual está assinalada ao sucesso de diversas culturas (MARTINS et al., 2020; LACERDA et al., 2020), em virtude, sobretudo, de seu caráter generalista, caracterizado por muitas operárias por ninhos que comunicam umas às outras as fontes de alimento disponíveis (GALLAI et al., 2009).

No Brasil, os serviços de polinização prestados pelas abelhas à agricultura brasileira são de R\$ 43 bilhões, cálculos referentes a 2018, sendo associados a quatro cultivos de grande importância agrícola: soja, café, laranja e maçã (BPBES/REBIPP, 2019). Na região Norte, no Estado do Amazonas, a castanha do Brasil, depende totalmente das abelhas para sua reprodução. Já em escala local, nos municípios da Serra da Bocaina e Mata do Jambreiro, foram obtidos valores anuais de US\$ 564.000 e US\$ 246.000 referentes às culturas dependentes de polinização (HIPÓLITO et al., 2019). E em pequenas propriedades rurais dos municípios de Toledo e Itariri no Estado de São Paulo, o valor para a polinização de maracujá foi de US\$ 2.583 para cada hectare, referente a cada dois anos (POPAK et al., 2019).

Em áreas de produção com a adição de colônias de *A. mellifera*, Ribeiro (2015) constatou um aumento de até 3 toneladas na produtividade de melão, o que caracteriza a eficiência das abelhas na polinização, e conseqüentemente um aumento da produtividade. Paudel et al. (2015) identificaram que na ausência da *A. mellifera* em pomares de maçã, cerca de 90% das flores abortaram, resultando num rendimento produtivo mínimo, identificando uma dependência elevada da espécie nas áreas de produção.

Além da polinização, as abelhas melíferas produzem substâncias de grande valor biológico e econômico que movimentam milhões de dólares em todo mundo. Dentre os

produtos apícolas, destaca-se o mel, que representa um importante insumo econômico para muitos países (RUIZ-TOLEDO et al., 2018).

No aspecto ecológico, também apresentam importância como bioindicadores de poluição ambiental. De acordo com Villalba et al. (2020) as abelhas e seus produtos, principalmente através do pólen, fornecem dados sobre toda a área que cobrem durante o forrageamento, ressaltando a importância da polinização no contexto da produção de alimentos, para a reprodução de espécies nativas e para o equilíbrio dos ecossistemas.

2.2 DECLÍNIO NA POPULAÇÃO DE POLINIZADORES EM ÁREAS AGRÍCOLAS

Um dos problemas ambientais globais mais graves ocasionados por ações antrópicas é a perda da diversidade biológica, associados aos serviços ecossistêmicos prestados pelos polinizadores. Estes serviços, estão em risco pelo uso massivo de pesticidas, sendo o principal fator para o desaparecimento dos polinizadores, levando ao declínio das suas populações.

De acordo com Neumann et al. (2010), o número de colônias de abelhas manejadas está diminuindo em algumas partes do mundo. Um dado preocupante, pois esses polinizadores são fundamentais para manter a produção de alimentos, impactando em 35% da produção agrícola mundial. Em muitas regiões, abelhas e outros polinizadores selvagens, como pássaros, morcegos, borboletas e besouros, estão diminuindo em abundância e diversidade. A ausência de polinizadores afetaria em diferentes culturas comerciais, como por exemplo, em tomates, maçãs, amêndoas, café e cacau. (GAGLIANONE et al., 2015).

As abelhas desempenham um papel crucial no funcionamento de quase todos os ecossistemas terrestres existentes, incluindo os que são dominados pela agricultura. Em escala global, três em cada quatro das culturas que produzem frutos ou sementes para o consumo humano dependem das abelhas (FAO,2022), especialmente, as abelhas *A. mellifera*, consideradas os polinizadores economicamente mais valiosos de monoculturas de lavouras em todo o mundo. Os rendimentos de algumas frutas e sementes diminuem mais de 90% na ausência desses polinizadores (KLEIN et al., 2020).

A polinização não apenas garante a segurança alimentar, mas também a diversificar os meios de subsistência dos pequenos agricultores. Sendo o déficit de polinização, em cultivos, a principal limitação na produção agrícola em termos econômicos (VAISSIÈRE et al., 2011). O estudo de Magalhães e Freitas (2013) relata a importância de identificar os requerimentos dos polinizadores eficazes de cada cultura e providenciá-los para permitir a presença dessas espécies nas áreas de cultivo. Já a pesquisa por Freitas et al. (2014), sobre o papel dos

polinizadores na agricultura brasileira revelaram que a produtividade em todas as culturas agrícolas avaliadas estava aquém do seu potencial máximo de produção devido à existência de déficits de polinização, que geravam perdas igual ou superior a 70% em alguns plantios.

A diminuição nas populações de abelhas em áreas agrícolas de todo o mundo, vem sendo constatada a décadas. Além do uso exacerbado de pesticidas em grande culturas agrícolas, existem outros fatores que contribuem, como por exemplo, à perda e degradação de seu habitat, presença de patógenos, parasitas e as mudanças climáticas (GOULSON et al., 2015; HUNG et al., 2018).

No Brasil, estão registrados 2811 agrotóxicos no Ministério da Agricultura, destes 493 foram registrados em 2020, a maioria de produtos genéricos e 94 para utilização industrial em 2021, mostrando tendência no aumento destes produtos no país, podendo aumentar ainda mais esta problemática (MAPA, 2022).

A morte das abelhas só chamou a atenção mundial a partir do surgimento da DCC - Desordem do Colapso da Colônias (CCD - Colony Collapse Disorder), em 2006, nos Estados Unidos e vem sendo estudado em diversas partes do mundo. Na Europa e em outros continentes os relatos são esporádicos (VAN ENGELSDORP et al., 2009). No caso do Brasil, existem alguns casos suspeitos de CCD no Sudeste. Porém, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020), não há comprovação científica de que o fenômeno aconteça no Brasil.

É crescente a quantidade de estudos publicados sobre o declínio de populações de abelhas silvestres, em todo o mundo, isso devido à intensificação das atividades agropecuárias (MWEBAZE et al., 2018). Em contra partida, o aumento da demanda por polinizadores naturais não tem acompanhado a sua oferta por causa da dinâmica da globalização e do aumento populacional, o que requer um novo modelo de agricultura (NICHOLLS et al., 2020). A previsão de aumento da população mundial de 7,6 bilhões para 9,2 bilhões até 2050 provocar á um aumento da demanda pelos serviços de polinização (MSU, 2018). Desta forma, o declínio das populações de abelhas silvestres e manejadas em todo o mundo juntamente com a elevação na demanda por produção de alimentos, acarretará um aumento nos preços dos alimentos.

No Brasil, a agricultura é a maior beneficiária dos serviços de polinização e ao mesmo tempo a principal impulsionadora de sua diminuição. Nossa produção agrícola baseia-se no modelo de monocultura, que se torna cada vez mais dependente do uso de agrotóxicos, gerando efeitos danosos aos ecossistemas. Diante disso, é necessário a adoção de práticas que respeitem o meio ambiente, que preservem e restaurem os habitats dando o devido suporte aos serviços de polinização, incorporados às áreas agrícolas (RUNDLÖF et al., 2018).

2.3 TOXICIDADE DE INSETICIDAS SOBRE ABELHAS COM ÊNFASE NA ESPÉCIE

Apis mellifera

2.3.1 Toxicidade de Antranilamidas/diamidas antranílicas sobre *Apis mellifera*

Ao longo dos últimos anos, foi notório um progresso na pesquisa sobre as avaliações dos efeitos toxicológicos que o uso de pesticidas e os seus possíveis danos para as abelhas. Entre os estudos, alguns relacionaram o uso de pesticidas e seus efeitos cumulativos e tóxicos, dependendo da dose/concentração, modo de ação e via de exposição (HENRY et al., 2012; MEIKLE et al., 2016; ZHANG et al., 2020).

Segundo Pereira et al. (2019), após poucas horas de exposição aos agrotóxicos é possível identificar mortalidade das abelhas. Abelhas dentro e fora da caixa, juntamente com a ausência de doenças e pragas são indícios de mortalidade ocasionada por agrotóxicos e que estão servindo de alerta para os apicultores (KAHLOW et al., 2016).

Os agrotóxicos são usados de forma excessiva e sem avaliação crítica. No Brasil, um estudo recente apontou o uso de agrotóxicos como a principal causa de perda de colônias em todas as regiões do país (CASTILHOS et al., 2019). Para Barascou et al. (2021), os pesticidas devem ser avaliados e aprovados pelas autoridades regulatórias antes do registro.

No caso das Antranilamidas/diamidas antranílicas, os inseticidas apresentam um modo de ação por ingestão, no qual ligam-se aos receptores rianodínicos, localizados na membrana do retículo sarcoplasmático, ativando a liberação irregular de íons de cálcio das células e comprometendo a contração muscular, acarretando na letargia, paralisia e morte do inseto (CORDOVA et al., 2006). As antranilamidas comercializados e mais utilizadas são: o Clorantraniliprole e o Ciantraniliprole, que são inseticidas de contato e ingestão, utilizados para diversas culturas, entre elas estão abobrinha (*Cucurbita pepo* L.), jiló (*Solanum aethiopicum* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), chuchu (*Sechium edule* Swartz), soja (*Glycine max* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), melão (*Cucumis melo* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Seu uso está atrelado a sua eficiência no controle de praga, menor impacto ambiental e boa ação residual (WHALON et al., 2008). Porém, são considerados novos no âmbito do mercado, existindo poucos estudos sobre os efeitos desses inseticidas.

Smaghe et al. (2013) avaliando a toxicidade do inseticida Clorantraniliprole em *Bombus terrestris* e *A. mellifera*, pelo modo de exposição via dieta contaminada, identificaram

uma baixa mortalidade em ambas espécies. Também foi relatado em outros estudos a baixa mortalidade do Clorantraniliprole sobre operárias adultas de *A. mellifera*, porém identificou-se uma alteração na capacidade de voo e uma alteração na expressão dos genes que regulam o sistema imunológico da abelha (FENT; CHRISTEN, 2017; GOMES et al., 2020). Estes relatos trazem consequências ecológicas e econômicas, no qual a sobrevivência da colônia pode ser comprometida.

Ratnakar et al. (2017), ao estudarem a toxicidade do inseticida Clorantraniliprole, após a exposição de 0,15 ml/L, constataram que, ao longo de 24 horas de exposição pelo método filme seco, o produto apresentou uma toxicidade mínima sobre a *A. mellifera*, representada por 14,46% na taxa de mortalidade final. Gomes et al. (2020) avaliaram não só a toxicidade do Clorantraniliprole, mas também dos inseticidas Azadiractina, Piriproxifeno e Imidacloprido, aplicados no cultivo de melão cantaloupe, com doses de 0,0x, 0,1x e 1,0x, concluindo que o inseticida Clorantraniliprole, foi o único que afetou apenas na capacidade de voo da *A. mellifera*, diferindo dos demais inseticidas. O Imidacloprido foi extremamente tóxico, causando 90% de mortalidade via pulverização direta, ingestão de dieta contaminada e contato com superfície contaminada, além de afetar significativamente a capacidade de voo, Azadiractina ocasionou mortalidade via ingestão de dieta contaminada, afetando também a capacidade de voo e o Piriproxifeno que acarretou mortalidade dos insetos via contato com superfície contaminada.

O Ciantraniliprole, é um inseticida sistêmico do grupo químico Antranilamidas (IRAC - grupo 28), atuando por ingestão e contato, representa um risco reduzido para as abelhas e são escassos os estudos sobre sua toxicidade. Sendo recomendado pelo fabricante para várias culturas de importância agrícola no Brasil, como por exemplo, o algodão, batata, café, cebola, alho, feijão, melancia, melão, pepino, pimentão, repolho, soja, tomate, pimenta, quiabo, abobrinha e abóbora (AGROFIT, 2021).

Dinter et al. (2015) ao avaliarem a toxicidade do inseticida Ciantraniliprole, por dois modos de exposição, na LD50 0,39 µg/abelha via oral e 0,63 µg/abelhas via contato, constataram um baixo risco as abelhas, pois não causou aumento na taxa de mortalidade das mesmas. Sousa et al. (2018) avaliaram a toxicidade dos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantraniliprole nas doses recomendada, via ingestão, sobre *A. mellifera* e constataram que o Clorantraniliprole ocasionou 35,8% de mortalidade, diferindo estatisticamente das duas doses do inseticida Ciantraniliprole que ocasionaram, na dose mínima e máxima, 43,4% e 49,8% de mortalidade de *A. mellifera*, sendo considerado de baixo risco as abelhas, por possuir taxa de mortalidade inferior a 50%.

2.3.2 Toxicidade de Espinosinas sobre *Apis mellifera*

As Espinosinas são neurotóxicos, caracterizado como um bioinseticida, derivado da fermentação aeróbica da bactéria *Saccharopolyspora spinosa*. Este agente microbiano sintetiza nove metabólitos secundários (A-H e J) denominados espinosinas, sendo os compostos orgânicos A (componente principal) e D (componente secundário) os que possuem maior atividade inseticida. Seu modo de ação consiste em atuar no sistema nervoso central dos insetos, especificamente nos receptores nicotínicos de acetilcolina, que estão atrelados como a principal causa de morte por hiperexcitabilidade. Esse mecanismo, evita a ocorrência de resistência cruzada com outros tipos de inseticidas que possuem modo de ação similar (BACCI et al., 2016; DIAS et al., 2017).

Dentre as Espinosinas, os principais ingredientes ativos são os Espinosade e Espinetoram. Atualmente, a demanda é crescente, sendo recomendados para diversos cultivos agrícolas de importância econômica, como por exemplo, acerola (*Malpighia emarginata* DC.), alho (*Allium sativum* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), cebola (*Allium cepa* L.), goiaba (*Psidium guajava* L.), maçã (*Pirus malus* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), melão (*Cucumis melo* L.), tomate (*Solanum lycopersicon* L.), pimenta (*Capsicum spp.*) e pimentão (*Capsicum annuum* L.) (AGROFIT, 2021).

Apesar da sua origem biológica, existe uma preocupação em seu uso no controle de insetos, uma vez que o produto biológico à base desta bactéria não é seletivo e, por isso afeta os artrópodes benéficos existentes nos ecossistemas terrestres e aquáticos, gerando um impacto negativo ao meio ambiente e a fauna associada (LAWLER 2017; MOSSA et al., 2018; MONTEIRO et al., 2019).

No Brasil, ao longo do tempo estudos começaram a relatar os impactos ocasionados por Espinosinas, e perceberam que ao longo período de uso do produto, causa efeitos acumulativos de toxicidade para os organismos não alvos, incluindo as abelhas (BIONDI et al., 2012; VILLAVARDE et al., 2014; GIANNINI et al., 2015).

Neste contexto, Rabea et al. (2010) avaliaram a toxicidade via oral do Espinosade, na CL50 de 7,34 mg/L, e constataram que o produto foi extremamente tóxico sobre *A. mellifera*, avaliando que em relação ao inseticida, as abelhas diminuíram significativamente as atividades específicas da ATPase na cabeça. Lopes et al. (2018), ao estudarem o efeito da toxicidade do inseticida Espinosade via oral na dose recomendada para campo de 0,816 mg / mL para operárias de *A. mellifera*, constataram 100% de mortalidade ao final da avaliação, sendo

extremamente tóxico sobre as abelhas. Também verificaram que após a ingestão do inseticida as abelhas tiveram desorganização do intestino médio e epitélio do túbulo de Malpighi das operárias forrageiras. Sobre o inseticida Espinetoram, um estudo realizado por Carmo (2017), constatou uma taxa de 100% de mortalidade das abelhas, expostas ao inseticida por pulverização direta, nas dosagens mínima e máxima recomendada, após 48h de avaliação.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROLINKFITO, O Portal do Conteúdo Agropecuário. Disponível em:<<https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito>> Acesso em: 02 de Jan 2022.
- BACCI, L.; LUPI, D.; SAVOLDELLI, S.; ROSSARO, B. A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. **Journal of Entomological and Acarological Research** 48: 40-52, 2016.
- BARASCOU, L.; BRUNET, J.L.; BELZUNCES, L.; DECOURTYE, A.; HENRY, M.; FOURRIER, J.; LE CONTE, Y.; ALAUX, C. Pesticide risk assessment in honeybees: Toward the use of behavioral and reproductive performances as assessment endpoints. **Chemosphere**, v. 276, 2021.
- BIONDI, A.; MOMMAERTS, V.; SMAGGHE, G.; VINUELA, E.; ZAPPALA, L.; DESNEUX, N. The non-target impact of spinosyn on beneficial arthropods. **Pest Management Science**, v. 68, n. 12, p. 1523-1536, 2012.
- BPBES/REBIPP. **Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil**. Wolowski M, Agostini K, Rech RA, Varassin IG, Maués M, Freitas L Carneiro LT, Bueno RO, Consolaro H, Carvalheiro L, Saraiva AM, Silva CI & Padgurschi MCG (Org.). 1ª edição, São Carlos, SP: Editora Cubo. P.184,2019.
- CARMO, D. das G. do; MARSARO JÚNIOR, A. L.; COSTA, T. L.; FARIAS, E. de SÁ; RIBEIRO, A. V.; PICANÇO, M. C. Toxicidade de inseticidas comerciais, por ação de contato, para *Apis mellifera*. **Insetos e Entomologia**, Viçosa-MG, p. 145-148,2017.
- CASTILHOS, D.; BERGAMO, G.C.; GRAMACHO, K.P.; GONÇALVESL. S. Bee Colonylosses in Brazil:a 5-year online survey. **Apidologie**, v.50, n.3, p.263-272, 2019.
- CORDOVA, D. et al. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.84, p.196-214, 2006.
- CRIDLAND, J.M.; TSUTSUI, N.D.; RAMÍREZ, S.R. The complex demographic history and evolutionary origin of the western honeybess, *Apis mellifera*. **Genome Biology and Evolution**, v.09, n. 2, p. 457, 2017.
- DIAS, L.S.; MARCORIS, M.L.G.; ANDRIGHETTI, M.T.M.; OTRERA, V.C.G.; DIAS, A.S.; BAUZER, L.G.S.R.; RODOVALHO, C.M.; MARTINS, A.J.; LIMA, J.B.P.Toxicity of Spinosad to temephos-resistant *Aedes aegypti* populations in brazil. **PLoS One**, 2017.
- DINTER, A.; SAMEL, A. Cyantraniliprole: pollinator profile of the novel insecticides under laboratory, semi-field and field conditions. **Julius-Kühn-Archive**, n. 450, p. 28-49, 2015.
- DEVINE, G.J.; FURLONG, M.J. Insecticide use:context sand ecological consequências.**Agricultureand HumanValues**, v.24, n.3, p.281-306, 2007.
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <https://www.fao.org>, Acesso em: 05 dez, 2021.

FENT, K.; CHRISTEN, V. Exposure of honeybees (*Apis mellifera*) to different classes of insecticides exhibit distinct molecular effect patterns at concentrations that mimic environmental contamination. **Environmental Pollution**, v. 226, p. 48-59, 2017.

FREITAS, B.M.; SILVA, C.; LEMOS, C.; ROCHA, E.; MENDONÇA, K.; PEREIRA, N. **Plano de manejo para polinização da cultura do cajueiro: conservação e manejo de polinizadores para agricultura sustentável, através de uma abordagem ecossistêmica**. Rio de Janeiro: FUNBIO, 2014.

GAGLIANONE, M. C.; CAMPOS, M. J. O.; FRANCESCHINELLI, E.; DEPRÁ, M. S.; SILVA, P. N.; MONTAGNANA, P. C.; HAUTEQUESTT, A. P.; MORAES, M. C. M.; CAMPOS, L. A. O. **Plano de manejo para os polinizadores do tomateiro**. 2015.

GALLAI, N.; SALLES, J.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, v.68, n. 3, p. 810-821, 2009.

GIANNINI, T.C.; FREITAS, B.M.; SARAIVA, A.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The Dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**. v.108, n. 3, p. 849-857, 2015.

GOULSON,D; NICHOLLS,E; BOTÍAS,C; ROTHERAY,E.L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v.347, n.1, p.1-7, 2015.

GOMES, I. N.; VIEIRA, K. I. C.; GONTIJO, L. M.; RESENDE, H. C. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 1, p. 97-107, 2020.

HENRY, M.; BÉGUIN, M.; REQUIER, F.; ROLLIN, O.; ODOUX, J.F.; AUPINEL, P.; APTEL, J.; TCHAMITCHIAN, S.; DECOURTYE, A.A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in HoneyBees. **Science**, v.336, n. 1, p.348-350, 2012.

HUNG, K. J. et al. The worldwide importance of honeybees as pollinators in natural habitats. **Proceedings of The Royal Society B**, p. 1–8, 2018.

HIPÓLITO, J.; SOUSA, B. S. B.; BORGES, R. C.; BRITO, R. M.; JAFFÉ, R.; DIAS, S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GIANNINI, T. C. Valuing nature's contribution to people: The pollination services provided by two protected areas in Brazil. **Global Ecology and Conservation**, v.20, 2019.

KAHLOW, C. et al. Atendimento à suspeita de intoxicação por agrotóxicos em apicultura no centro-sul do paran . **MV & Z**, v. 14, n. 2, p. 73, 2016.

KEARNS, C.A.; INOUE, D.W. Pollinators, flowering plants and conservation biology. **BioScience**, v.47, n. 1, p.297-307, 1997.

KLEIN AM, et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings Royal Society**, v. 274, p. 303 –313, 2007.

KLEIN, A.M.; FREITAS, B.M.; BOMFIM, G.A.; BOREUX, V.; FORNOFF, F.; OLIVEIRA, M.O.A. **Poliniza o Agrícola por Insetos no Brasil**. Maranguape, Unifreiburg, 2020.

KOVÁCS-HOSTYÁNSZKI, A. et al. Ecological intensification to mitigate impacts of conventional intensive land use on pollinators and pollination. **Ecology Letters**, v. 20, n. 5, p. 673-689, 2017.

LAWLER, S.P. Environmental safety review of methoprene and bacterially derived pesticides commonly used for sustained mosquito control. **Ecotoxicology and environmental safety** 139: p. 335-343, 2017.

LACERDA, D. C. O. et.al. Biodiversidade de polinizadores em floração de cebola (*Allium cepa* L.). **Cadernos de agroecologia**, v.15 n.2, 2020.

LOPES, M. P.; FERNANDES, K. M.; TOMÉ, H. V. V.; GONÇALVES, W. G.; MIRANDA, F. R.; SERRÃO, J. E.; MARTINS, G. F. Spinosad-mediated effects on the walking ability, midgut, and Malpighian tubules of Africanized honeybee workers. **Pest management science**, v. 74, n. 6, p. 1311-1318, 2018.

MAGALHÃES, C.B.; FREITAS, B.M. Introduction nests of the oil collect bee *Centris analis* (Hym. Apidae, Centridini) for pollination of acerola (*Malpighia emarginata*) increases yield. **Apidologie**, n. 44, p. 234-237, 2013.

MAPA, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS**. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/>> Acesso em: 02 de Jan 2022.

MARTINS, A. M. L. B. et al. A importância das abelhas para polinização do cajueiro na localidade Riachão, Itainópolis- PI. **Cadernos de agroecologia**, 15(2). 2020.

MEIKLE, W. G. et al. Sublethal effects of imidacloprid on honeybee colony growth and activity at three sites in the U.S. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, p. 1–22, 2016.

MOSSA, A.T.H.; MOHAFRASH, S.M.; CHANDRASEKARAN, N. Safety of natural insecticides: toxic effects on experimental animals. **BioMed research international**, n.17, 2018.

MONTEIRO, H.R.; PESTANA, J.L.; NOVAIS, S.C.; SOARES, A.M.; LEMOS, M.F. Toxicity of the insecticides spinosad and indoxacarb to the non-target aquatic midge *Chironomus riparius*. **Science Total Environment**. n.666, p.1283-1291, 2019.

MSU. Michigan State University. **Feeding the world in 2050 and beyond - Part 1: Productivity challenges**. Michigan State University Extension, 2018.

MWEBAZE, P.; MARRIS, G. C.; BROWN, M.; MACLEOD, A.; JONES, G.; BUDGE, G. E. Measuring public perception and preferences for ecosystem services: A case study of bee pollination in the UK. **Land Use Policy**, v.71, p.355-362, 2018.

NICHOLLS, E.; ELY, A.; BIRKIN, L.; BASU, P.; GOULSON, D. The contribution of small-scale food production in urban areas to the sustainable development goals: a review and case study. **Sustainability Science**, v.15, n.6, p.1585-1599, 2020.

NEUMANN, P. et al. Micro-drone for the characterization and self-optimizing search of

hazardous gaseous substance sources: A new approach to determine wind speed and direction. **International Workshop on Robotic and Sensors Environments, Proceedings**, p. 1–6, 2010.

PAUDEL, Y.P., MACKERETH, R. HANLEY, R, & QIN, W. HoneyBees (*Apis mellifera*) and Pollination Issues: Current status, impacts and potential drivers of decline. **Journal of Agricultural Science**, v.7, n. 6, p. 93, 2015.

PIRES, C.S.S.; PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**.vol.51, n.5, p.422-442,2016.

PEREIRA, L. H. et al. Efeitos do uso de pesticidas nas abelhas: revisão sistemática em bases de dados científicas. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 32821–32833, 2019.

POTTS, S.G.; ROBERTS, S.P.M.; DEAN, R.; MARRIS, G.; BROWN, M.A.; JONES, R.; NEUMANN,P.;SETTELE,.Declines of managed honeybee sand .**Journal of Apicultural Research**,Cardiff, v.49, n.1, p. 15–22,2016.

POPAK, A. E.; MARKWITH, S. H.; STRANGE, J.Economic Valuation of Bee Pollination Services for Passion Fruit (Malpighiales: Passifloraceae) Cultivation on Smallholding Farms in São Paulo, Brazil, Using the Avoided Cost Method. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n.5, p.2049-2054, 2019.

RATNAKAR, V.; KOTESWARA, R. S. R.; SRIDEVI, D.; VIDYASAGAR, B. Sublethal exposure of certain newer insecticides molecules to honeybee, *Apis mellifera* Linnaeus. **Indian Journal of Pure & Applied Biosciences**, v. 5, n. 4, p. 641-646, 2017.

RABEA, E. I.; NASR, H. M.; BADAWEY, M. E. I. Toxic effect and biochemical study of chlorfluazuron, oxymatrine, and spinosad on honeybees (*Apis mellifera*). **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 58, n. 3, p. 722-732, 2010.

RIBEIRO, M. DE F et al. Honey bees (*Apis mellifera*) visiting flowers of yellow melon (*Cucumis melo*) using different number of hives. **Ciência Rural**. v. 45, n. 10 p. 176, 2015.

ROUBIK, D. The pollination of cultivated plants: a compendium for practitioners. [S.l: s.n.], 2018.

RUIZ-TOLEDO, J. et al. Organochlorine pesticides in honey and pollen samples from managed colonies of the honeybee *Apis mellifera* Linnaeus and the stingless bee *Scaptotrigona mexicana* Guérin from southern, México. **Insects**, v. 9, n. 2, p. 1–18, 2018.

RUNDLÖF, M.; LUNDIN, O.; BOMMARCO, R. Annual flower strips support pollinators and potentially enhance red clover seed yield. **Ecology and Evolution**, v.8, n.16, p.7974-7985, 2018.

SILVA, M. F. et al. Abelhas polinizadoras e produção de frutos e sementes em café convencional. **Brazilian journal of animal and environment research**, v. 3, n.4, 4227-423,2020.

SOUSA, C. A. E., AUGUSTO, L. P., MENDONÇA, A. J. T., COSTA, E. M. Toxidade de

clorantraniliprole e ciantraniliprole, nas doses recomendadas para cucurbitáceas, sobre *Apis mellifera* L. **Caderno Verde De Agroecologia E Desenvolvimento Sustentável**, v. 8. n.1, p.12,2018.

SMAGGHE, G.; DEKNOPPER, J.; MEEUS, I.; MOMMAERTS, V. Dietary Chlorantraniliprole suppresses re production in worker bumblebees. **Pest Management Science**, Sussex, v. 69, n. 7, p. 787-791, 2013.

TANING, C. N. T.; VANOMMESLAEGHE, A.; SMAGGHE, G. With or with-out foraging for food, field-realistic concentrations of sulfoxaflor are equally toxic to bumblebees (*Bombus terrestris*). **Entomologia Generalis**, v. 39, n. 2, p. 151 – 155, 2019.

VANENGELSDORP, D.; EVANS, J.D.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B.K.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D.R.; PETTIS, J.S. Colony collapse disorder: a descriptive study. **Plos One**, v. 4, n. 8, e6481, 2009.

VAISSIÈRE, B.E. et al. **Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use**. 2. ed. Roma: FAO. v. 1, 70 p., 2011.

VARIKOU, K.; GARANTONAKIS, N.; BIROURAKI, A. Exposure of *Bombus terrestris* L. to three different active ingredients and two application methods for olive pest control. **Entomologia Generalis**, v. 39, n. 1, p. 53– 60, 2019.

VILLAVERDE, J. J.; SEVILLA-MORÁN, B.; SANDÍN-ESPAÑA, P.; LÓPEZ-GOTI, C.; ALONSO-PRADOS, J. L. Biopesticides in the framework of the Europe and Pesticide Regulation (EC). **Pest Management Science**, n. 70, p. 2–5, 2014.

VILLALBA, A. et al. Influence of land use on chlorpyrifos and persistent organic pollutant levels in honeybees, bee bread and honey: Beehive exposure assessment. **Science of the Total Environment**, v. 713, 2020.

WU-SMART, J.; SPIVAK, M. Sublethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honeybee queen fecundity and colony development. **Scientific Reports**, v. 6, n. 32108, 2016.

ZHANG, Z.Y.; LI, Z.; HUANG, Q.; ZHANG, X.W.; KE, L.; YAN, W.Y.; ZHANG, L.Z.; ZENG, Z.J. Deltamethrin Impairs Honeybees (*Apis mellifera*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 78, n.1, p. 117 –123, 2019.

WHALON, M. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R. M. Analysis of global pesticide resistance in arthropods. **Global Pesticide Resistance in Arthropods**, [S.l.], v.5, p. 31, 2008.

CAPÍTULO 1

SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO DIRETA E ORAL A DIFERENTES DOSES DOS INSETICIDAS CLORANTRANILIPROLE E CIANTRANILIPROLE

Resumo: As abelhas *Apis mellifera* L. são fundamentais na cadeia produtiva agrícola devido ao serviço ecossistêmico de polinização prestado, garantindo a diversidade de alimentos e a produção de produtos apícolas. Entretanto, o uso indiscriminado de pesticidas no campo agrícola tem ocasionado o declínio em nível mundial das suas colônias. Essa exposição aos agrotóxicos pode ocasionar problemas graves para as abelhas e aos serviços de polinização. Nesse sentido, é importante avaliar a toxicidade de inseticidas que são utilizados para o controle de pragas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de toxicidade dos inseticidas Clorantraniliprole (Premio[®]) e Ciantraniliprole (Benevia[®]), ambos do grupo químico das Antranilamidas, na sobrevivência e capacidade de voo da abelha africanizada *A. mellifera*. O experimento foi desenvolvido no laboratório de Entomologia (sala climatizada a 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h) pertencente a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), no Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA), Campus Pombal-PB, Brasil. Foram utilizadas operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera*, provenientes de três colmeias instaladas em caixas de madeira do tipo Langstroth, pertencentes ao apiário do CCTA/UFCG. Para avaliar a toxicidade, foram testadas cinco doses comerciais do inseticida Clorantraniliprole (0.015, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 g i. a. L⁻¹) e do inseticida Ciantraniliprole (0.015, 0.02, 0.04, 0.05, 0.1 g i. a. L⁻¹), registradas para o controle de pragas em diversas culturas. Os efeitos dos inseticidas foram testados em dois modos de exposição: pulverização direta dos inseticidas sobre as abelhas e o fornecimento de dieta contaminada pelos inseticidas, conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições para cada tratamento. Foram avaliadas a mortalidade, o comportamento e a capacidade de voo das abelhas. Ambos os inseticidas proporcionaram uma baixa mortalidade de *A. mellifera*, independentemente do modo de exposição e dose avaliada. O inseticida Ciantraniliprole causou baixa toxicidade quando fornecido via ingestão de dieta contaminada, com mortalidade de 19,3% ,19,9%, 21,3%, 22,2%, 22,9% para as doses 0,15, 0,2, 0,4, 0,5 e 1 g i. a. L⁻¹, respectivamente. O inseticida Clorantraniliprole apresentou taxas inferiores de mortalidade quando fornecido via ingestão de dieta contaminada e via pulverização direta, sendo menos nocivo comparado ao Ciantraniliprole. Os inseticidas avaliados foram considerados de baixo risco, no entanto, afetaram a capacidade de voo de *A. mellifera*.

Palavras-chaves: Polinizador. Antranilamidas. Toxicidade. Mortalidade.

**SURVIVAL AND FLIGHT ABILITY OF THE BEE *Apis mellifera* AFTER
DIRECT AND ORAL EXPOSURE TO DIFFERENT DOSES OF THE
INSECTICIDES CLORANTRANILIPROLE AND CYANTRANILIPROLE**

Abstract: *Apis mellifera* L. bees are fundamental in the agricultural production chain due to the ecosystem service of pollination provided, guaranteeing food diversity and the production of bee products. However, the indiscriminate use of pesticides in the agricultural field has caused the worldwide decline of its colonies. This exposure to pesticides can cause serious problems for bees and pollination services. In this sense, it is important to evaluate the toxicity of insecticides that are used for pest control. The objective of this work was to evaluate the toxicity levels of the insecticides Chlorantraniliprole (Premio[®]) and Ciantraniliprole (Benevia[®]), both from the chemical group of Anthranilamides, on the survival and flight capacity of the Africanized bee *A. mellifera*. The experiment was carried out in the Entomology laboratory (heated room at 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH and 12 h photophase) belonging to the Federal University of Campina Grande (UFCG), at the Agro-Food Science and Technology Center (CCTA), Campus Pombal-PB, Brazil. Adult workers of the Africanized bee *A. mellifera* were used, from three hives installed in Langstroth wooden boxes, belonging to the CCTA/UFCG apiary. To assess toxicity, five commercial doses of the insecticide Chlorantraniliprole (0.015, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 g i.a./L⁻¹) and the insecticide Ciantraniliprole (0.015, 0.02, 0.04, 0.05, 0.1 g i. a./L⁻¹), registered for the control of pests in several cultures. The effects of insecticides were tested in two exposure modes: direct spraying of insecticides on the bees and supply of a diet contaminated by insecticides, conducted in a completely randomized design, with 10 replications for each treatment. Survival test and flight test were performed. As an absolute control, distilled water was used. Both insecticides showed a low mortality for *A. mellifera*, regardless of the exposure method and dose evaluated. The Ciantraniliprole insecticide caused low toxicity when supplied via contaminated diet, with a mortality of 19,3, 19,9, 21,3, 22,2, 22,9% for doses 0.15, 0.2, 0.4, 0.5 and 1 g i. a./L⁻¹, respectively. The insecticide Chlorantraniliprole had lower mortality rates when supplied via contaminated diet ingestion and via direct spraying, being less harmful compared to Ciantraniliprole. The insecticides evaluated were considered low risk, however, they affected the flight activity of *A. mellifera*.

Keywords: Pollinator. Anthranilamides. Toxicity. Mortality.

1 INTRODUÇÃO

Cerca de 75% dos alimentos produzidos no mundo dependem de alguma maneira da polinização (ROUBIK, 2018; JACOB et al., 2019; REILLY JR et al., 2020) e, nesse cenário, destaca-se a abelha africanizada *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) como um dos mais eficientes polinizados em áreas agrícolas (KLEIN et al., 2020). Estima-se que os serviços dos polinizadores contribuem com cerca de 5% a 8% da atual produção global de alimentos, equivalendo entre US\$ 235 e 577 bilhões por ano. No Brasil, esse valor é estimado em R\$ 43 bilhões (BPBES/REBIPP, 2019).

No entanto, mesmo sendo essenciais para a manutenção da biodiversidade e produção agrícola, esses polinizadores vêm sofrendo com a intensificação da agricultura desde o século XIX, em virtude da utilização de agrotóxicos, sendo este o principal fator para o desaparecimento das abelhas (SÁNCHEZ-BAYO; WYCKHUYS, 2019). No Brasil, a elevada mortalidade de abelhas está atrelada a intoxicação de suas colônias por agrotóxicos. Castilhos et al. (2019), relataram que aproximadamente 50% das colônias de abelhas são perdidas anualmente nas diferentes regiões do país, um impacto de aproximadamente 1 bilhão de abelhas mortas, sendo o uso de pesticidas a principal causa apontada. Fato que resulta em perdas ecológicas e econômicas (BERINGER; MACIEL; TRAMONTINA, 2019).

Em relação aos inseticidas do grupo químico Antranilamidas existem poucos trabalhos visando avaliar a toxicidade sobre abelhas. No Brasil duas antranilamidas são registradas para uso na agricultura, Clorantraniliprole e Ciantraniliprole (MAPA, 2022). Gomes et al. (2020) avaliando a toxicidade dos inseticidas Azadiractina, Piriproxifeno, Clorantraniliprole e Imidacloprido, aplicados em cultivo de melão (*Cucumis melo* L), identificaram que o inseticida Clorantraniliprole, apresentou uma baixa mortalidade nos bioensaios, afetando apenas a capacidade de voo dos insetos, sendo esse produto o menos tóxico para as operárias de *A. mellifera* entre os inseticidas testados. Dinter et al. (2009) relataram a toxicidade do inseticida Clorantraniliprole nas doses de 0,027µg/abelha via oral e 0,005µg/abelha via contato direto, e constataram que, independente da dose utilizada, esse ingrediente ativo apresentou uma baixa taxa de mortalidade, sendo pouco tóxico para abelhas forrageiras de *Bombus terrestris* e *A. mellifera*.

Devido os agrotóxicos serem apontados como um dos principais fatores para o declínio de polinizadores em áreas agrícolas, é necessário o desenvolvimento de pesquisas que esclareçam os efeitos letais e subletais de doses comerciais sobre esses agentes. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a sobrevivência e a capacidade de voo das operárias

adultas da espécie *A. mellifera* expostas a diferentes doses comerciais dos inseticidas Clorantniliprole e Ciantraniliprole, no intuito de gerar subsídios que auxiliem para o manejo sustentável da referida abelha em áreas agrícolas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DOS EXPERIMENTOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal – PB.

2.2 OBTENÇÃO E SELEÇÃO DOS INSETOS PARA EXPERIMENTAÇÃO

Foram coletadas operárias adultas da abelha *A. mellifera* em 03 colmeias instaladas em caixas de madeira do tipo Langstroth, pertencentes ao apiário do CCTA/UFCG.

2.3 CONDUÇÃO DOS BIOENSAIOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Nos experimentos, foram feitos testes toxicológicos dos inseticidas Clorantniliprole (Premio[®]) e Ciantraniliprole (Benevia[®]), ambos pertencentes ao grupo químico das Antranilamidas.

Foram avaliadas cinco doses de cada inseticida, seguindo as recomendações contidas na bula de cada produto. As doses selecionadas são registradas para o controle de pragas em diversas culturas, como por exemplo: abobrinha (*Cucurbita pepo* L.), jiló (*Solanum aethiopicum* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), chuchu (*Sechium edule* Swartz), soja (*Glycine max* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), melão (*Cucumis melo* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (AGROFIT, 2022). Como testemunha absoluta foi utilizada água destilada e como testemunha positiva foi utilizado o inseticida Tiametoxam (Actara[®] 250 WG) na dose máxima recomendada pelo fabricante para cultura do meloeiro. Para os cálculos de diluição dos inseticidas foi considerado como base um volume médio de aplicação de 500 L/ha, sendo mantidas as proporções de g i.a./L de calda. Detalhes de cada inseticida e doses utilizadas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Inseticidas e respectivas doses avaliadas com relação à toxicidade sobre abelhas *Apis mellifera*, expostas a pulverização direta e por ingestão de dieta contaminada, Pombal – PB, 2022.

INGREDIENTE ATIVO	GRUPO QUÍMICO	DOSE AVALIADA	PRAGA ALVO
Clorantraniliprole	Antranilamidas	0,015 g i. a.L ⁻¹	<i>Elasmopalpus lignosellus</i>
		0,05 g i. a.L ⁻¹	<i>Spodoptera. frugiperda</i>
		0,1 g i. a.L ⁻¹	
		0,2 g i. a.L ⁻¹	
		0,3 g i. a.L ⁻¹	
Ciantraniliprole	Antranilamidas	0,015 g i. a.L ⁻¹	<i>Liriomyza sativae</i>
		0,02 g i. a.L ⁻¹	<i>Diaphania nitidalis</i>
		0,04 g i. a.L ⁻¹	
		0,05 g i. a.L ⁻¹	
		0,1 g i. a.L ⁻¹	
Tiametoxam	Neonicotinóide	0,30 g i. a.L ⁻¹	<i>Bemisia tabaci</i> Biótipo B <i>Aphis gossypii</i>

O efeito letal dos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantroniliprole sobre *A. mellifera* foi avaliado por meio de dois bioensaios distintos, correspondentes a duas formas de exposição das abelhas aos produtos, sendo estas: pulverização direta sobre as abelhas e ingestão de dieta contaminada (via oral) pelos inseticidas, seguindo a metodologia utilizada por Costa et al. (2014). Como forma de facilitar o manuseio durante a preparação dos bioensaios, as abelhas foram previamente anestesiadas por meio do uso do frio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$ durante 90 segundos).

Na realização dos dois bioensaios, as abelhas foram confinadas em arenas (recipientes plásticos com 15 cm de diâmetro x 15 cm de altura), vedadas parcialmente na extremidade superior com tela antiafídeo e as laterais com aberturas de aproximadamente 0,1 cm para proporcionar a circulação de ar adequada no ambiente. Em cada arena foi ofertado para alimentação pasta Cândi (dieta artificial de açúcar refinado + mel) em recipientes plásticos de 28 mm de diâmetro e água embebida em algodão hidrófilo (hidratado a cada hora de avaliação).

Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, composto por 12 tratamentos [T1–Testemunha absoluta (água destilada); T2–Testemunha positiva (Tiametoxam 0,30 g i. a. L⁻¹); T3 – Clorantraniliprole dose 1 (0,015 g i. a. L⁻¹); T4–Clorantraniliprole dose 2 (0,05 g i. a. L⁻¹); T5 – Clorantraniliprole dose 3 (0,1 g i. a. L⁻¹); T6 -

Clorantraniliprole dose 4 (0,2 g i. a. L⁻¹); T7- Clorantraniliprole dose 5 (0,3 g i. a. L⁻¹); T8- Ciantroniliprole dose 1 (0,015 g i. a. L⁻¹); T9- Ciantroniliprole dose 2 (0,02 g i. a. L⁻¹); T10- Ciantroniliprole dose 3 (0,04 g i. a. L⁻¹); T11- Ciantroniliprole dose 4 (0,05 g i. a. L⁻¹); T12 - Ciantroniliprole dose 5 (0,1 g i. a. L⁻¹), onde cada tratamento foi distribuído em dez repetições, com a parcela (arena) constituída por 10 operárias adultas de *A. mellifera*. A execução de todos os bioensaios foram realizados em sala climatizada a 25 ± 2 °C, 60 ± 10% UR e fotoperíodo de 12 h.

Após a aplicação dos tratamentos foram avaliadas a mortalidade e o comportamento das abelhas, em horários de observação padronizados, a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24 e 48 horas após o início da exposição aos inseticidas. Para avaliação comportamental dos insetos, foram analisados padrões como prostração, tremores e paralisia, sendo monitorado e registrado a partir dos primeiros 60 minutos após a aplicação, até o final das 48 horas de avaliação.

As abelhas foram consideradas mortas quando não apresentaram movimentos no momento das observações, mesmo quando recebia estímulos mecânicos (toques no corpo com pincel de cerdas finas).

2.3.1 Bioensaio 1: pulverização direta dos inseticidas sobre *Apis mellifera*

Nas arenas, as abelhas foram submetidas à exposição dos inseticidas, de acordo com cada tratamento estabelecido, usando-se a técnica de pulverização direta, com o auxílio de um pulverizador manual, simulando uma provável situação via pulverização em campo. Após a contaminação, foram avaliados os efeitos dos inseticidas sobre as abelhas durante o período de 48 horas.

2.3.2 Bioensaio 2: fornecimento de dieta contaminada com os inseticidas para *Apis mellifera*

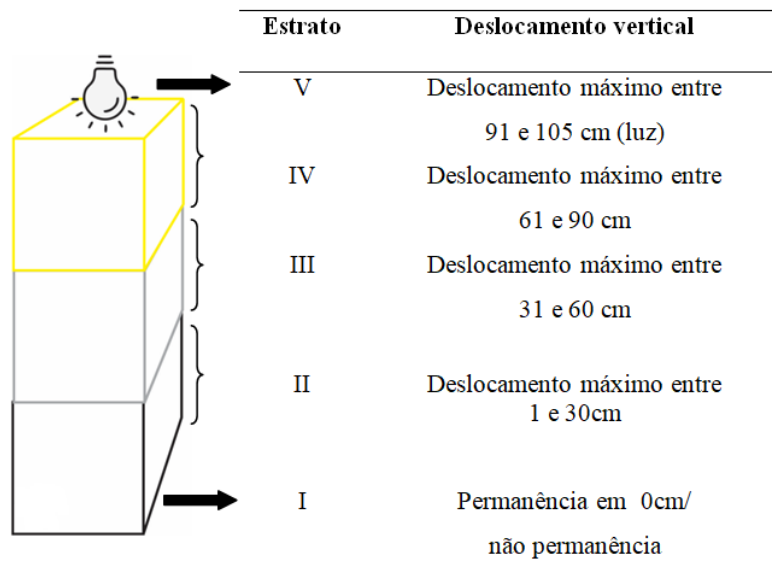
Para avaliar a toxicidade oral dos inseticidas sobre *A. mellifera*, inicialmente foi preparada a dieta artificial (pasta Cândi), e posteriormente os tratamentos foram pulverizados sobre a dieta com auxílio de um pulverizador manual, simulando uma situação de campo. Em seguida, com as abelhas já distribuídas, a dieta contaminada foi inserida nas arenas, juntamente com algodão embebido em água destilada. Após a introdução da dieta contaminada, as abelhas ficaram sob observação até que se obteve a confirmação da ingestão do alimento, sendo avaliados os efeitos dos inseticidas, de maneira constante, nas primeiras seis horas, até o período

de 48 horas.

2.3.3. Avaliação da capacidade de voo de *Apis mellifera* após exposição direta e oral aos inseticidas

Após os bioensaios de mortalidade, foi realizada avaliação da capacidade de voo das abelhas tendo como base a metodologia utilizada por Gomes et al. (2020). Para avaliação da capacidade de voo foram realizados dois bioensaios que corresponderam aos modos de exposição direta e oral aos inseticidas Clorantprilprole e Ciantranilprole, utilizando as mesmas doses descritas anteriormente. A capacidade de voo foi avaliada a 1h, 24h e 48h após o início da exposição aos inseticidas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído por 12 tratamentos e 30 repetições, sendo cada unidade experimental constituída por uma abelha adulta.

A capacidade de voo foi avaliada com auxílio de uma torre de voo, em sala escura, com temperatura média de 25 ± 2 °C e umidade relativa do ar de $60 \pm 10\%$, contendo uma fonte luminosa no topo da torre, com o objetivo de atrair as abelhas por meio do fototropismo positivo. A torre de voo era de madeira ($35 \times 35 \times 115$ cm de altura), aberta no seu interior, com uma lâmpada fluorescente no topo, uma fita métrica e com as laterais transparente para permitir a visualização do voo das abelhas. As abelhas sobreviventes após 1h, 24h e 48h de exposição, direta ou oral, foram liberadas individualmente na base da torre (altura 0 cm), e seu deslocamento foi avaliado por 60 segundos para a conclusão do voo, marcando o estrato máximo atingido. Posteriormente as abelhas foram liberadas. A torre de voo apresentou cinco níveis de altura, conforme Figura 1.



Fonte: Autoria própria, 2022

Figura 1. Ilustração da torre de voo e classificação dos estratos, de acordo com o comportamento das abelhas na avaliação da atividade de voo.

2. 4 ANÁLISE DOS DADOS

Para o teste de mortalidade, as médias foram corrigidas pela fórmula de Abbott (1925), em seguida aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (1952) a 5% de significância, seguido pelo teste de Wilcoxon. Os dados de sobrevivência das abelhas foram analisados utilizando o pacote “survival” (THERNEAU; LUMLEY, 2010) para o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010) e submetidos a uma distribuição Weibull, sendo em seguida agrupados por meio de contrastes os tratamentos com efeitos similares de toxicidade e velocidade de mortalidade.

Também foi calculado o tempo letal mediano (TL_{50}) para cada grupo formado. Em relação a capacidade de voo, para verificar se os tratamentos afetaram a quantidade de abelhas que atingiram cada classe de altura foi aplicada uma Análise de Variância com Permutação (PERMANOVA). Esta análise é adequada para dados que não satisfazem os pressupostos de testes paramétricos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os inseticidas Ciantraniliprole e Clorantraniliprole via pulverização direta, independente da dose utilizada, foram poucos nocivos a abelha *A. mellifera*. O inseticida Ciantraniliprole em ocasionou mortalidade entre 21,3% e 58,6%, diferindo estatisticamente da testemunha positiva (Tiametoxam), que ocasionou a morte de 100% das abelhas. O inseticida Clorantraniliprole também diferiu estatisticamente do inseticida Tiametoxam, ocasionando mortalidade entre 10,9% e 16,0% sobre *A. mellifera*. As cinco doses utilizadas do Clorantraniliprole não diferiram da testemunha absoluta (Figura 2). Apesar de proporcionarem baixa mortalidade, é importante salientar que as antranilamidas avaliadas provocaram paralisia nas abelhas antes da morte.

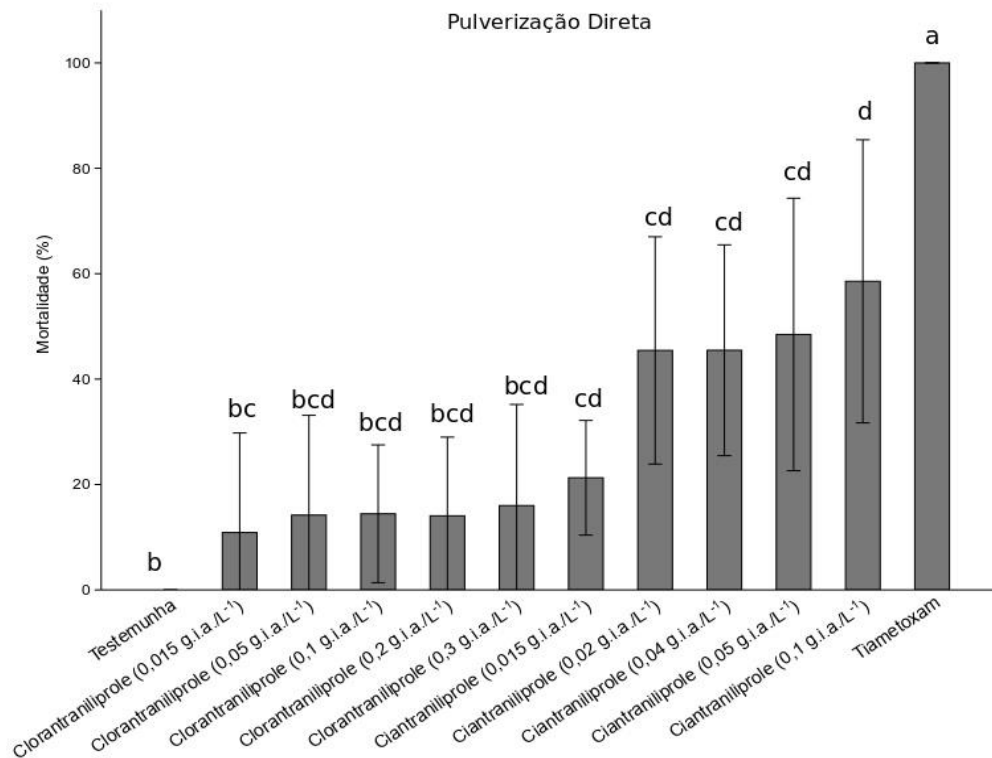


Figura 2. Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta aos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantroniliprole, Pombal – PB, 2022.

*Sobre as barras letras diferentes representam diferenças significativas de acordo com o teste de Wilcoxon ao nível de 5% de significância.

Para o modo de exposição oral, não houve diferença significativa entre as doses dos inseticidas testados. O inseticida Clorantraniliprole ocasionou mortalidade entre 14,4% e 14,6% e o Ciantraniliprole de 19,3% a 22,9%. Ambos os inseticidas diferiram estatisticamente da testemunha positiva (Tiametoxam), que ocasionou a morte de 100% das abelhas. Ressalta-se

ainda que as doses 0.015, 0.1 e 0.3 g i. a. L⁻¹ do Clorantraniliprole não diferiram estatisticamente da testemunha absoluta (água destilada) (Figura 3).

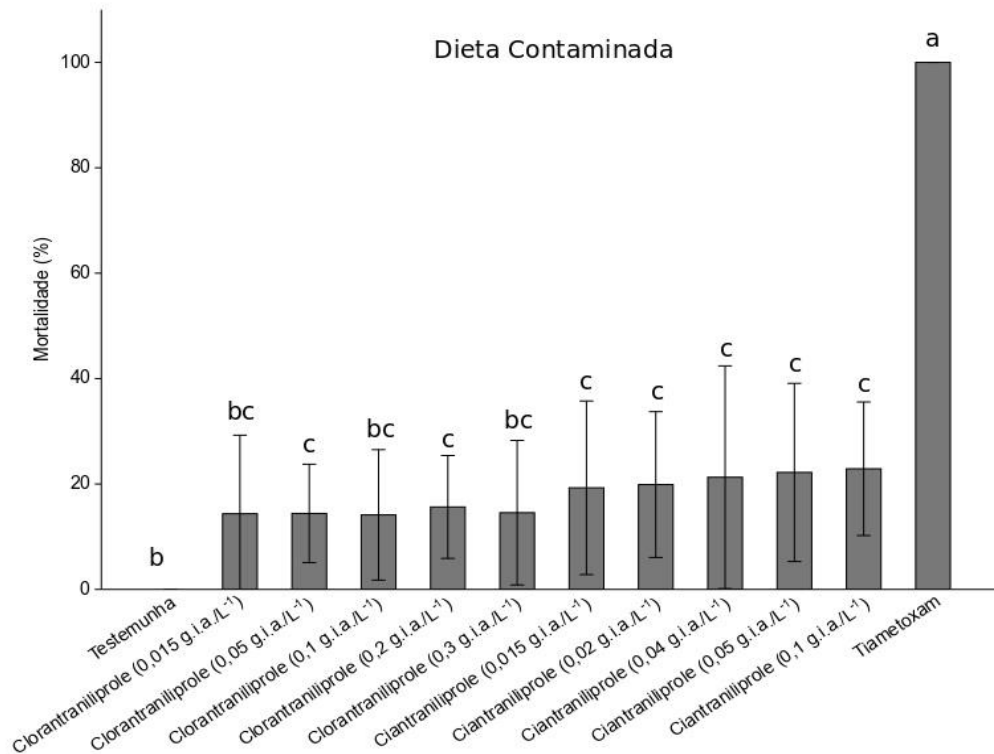


Figura 3. Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada aos inseticidas Clorantraniliprole e Ciantroniliprole, Pombal – PB, 2022.

*Sobre as barras letras diferentes representam diferenças significativas de acordo com o teste de Wilcoxon ao nível de 5% de significância.

Quando comparadas as mortalidade de cada inseticida de acordo com o modo de exposição, o Clorantraniliprole não apresentou diferença significativa entre a exposição direta e oral, ou seja, a abelha poderá ser exposta pela pulverização direta ou pela dieta contaminada que a taxa de mortalidade será semelhante. Para o Ciantraniliprole foi constatado diferença significativa a partir da segunda dose (0,02 g i.a L⁻¹), no qual a taxa de mortalidade foi superior pelo modo de pulverização direta, sendo mais letal, comparado a ingestão de dieta contaminada (Figura 4). Essa diferença apresentada pelo ingrediente ativo Ciantraniliprole pode está atrelado ao seu modo de ação, onde há uma liberação irregular dos estoques de cálcio nas células musculares, ocasionando uma contração irregular dos insetos e, posteriormente, a cessação de alimentação, letargia, paralisia e logo após a morte, conferindo uma seletividade a abelha *A. mellifera*, assim como, a outros insetos benéficos

(CORDOVA et al., 2007; SATTELLE et al., 2008).

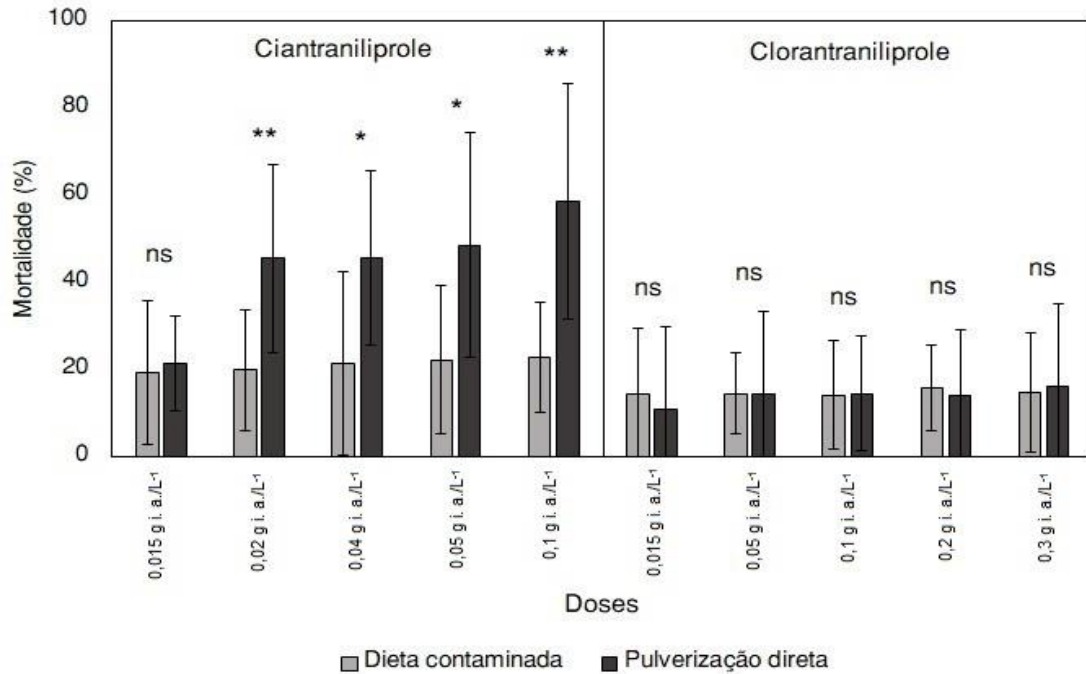


Figura 4. Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada e pulverização direta aos inseticidas Clorantropilprole e Ciantronilprole, Pombal – PB, 2022.

* ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$); ns (não significativo) de acordo com o teste de Wilcoxon.

Os inseticidas avaliados no presente trabalho ocasionaram mortalidade inferior a 50% em praticamente todas as doses, sendo, portanto, menos nocivos ao polinizador. No entanto, deve se fazer o uso desse inseticida de forma adequada nas áreas de cultivos agrícolas, reduzindo a pulverização direta sobre as abelhas no campo e, conseqüentemente, a mortalidade de *A. mellifera* (BLETTLER; FAGÚNDEZ; CAVIGLIA, 2018).

Quanto à análise de sobrevivência após pulverização direta, houve diferença nos valores do Tempo Letal Mediano (TL₅₀) para os inseticidas avaliados. Dentre os inseticidas, os maiores valores do TL₅₀ foram observados para as doses do Ciantronilprole e Clorantropilprole (Grupos 2 e 3), sendo a dose 0,015 g i.a L⁻¹ do Ciantronilprole e todas as doses do Clorantropilprole (Grupo 2) que apresentaram o maior TL₅₀ (118,25h) após a testemunha absoluta. Para ambos os inseticidas avaliados, nenhuma das concentrações apresentou a velocidade de mortalidade próxima da testemunha positiva (TL₅₀ = 1,01h) (Figura 5).

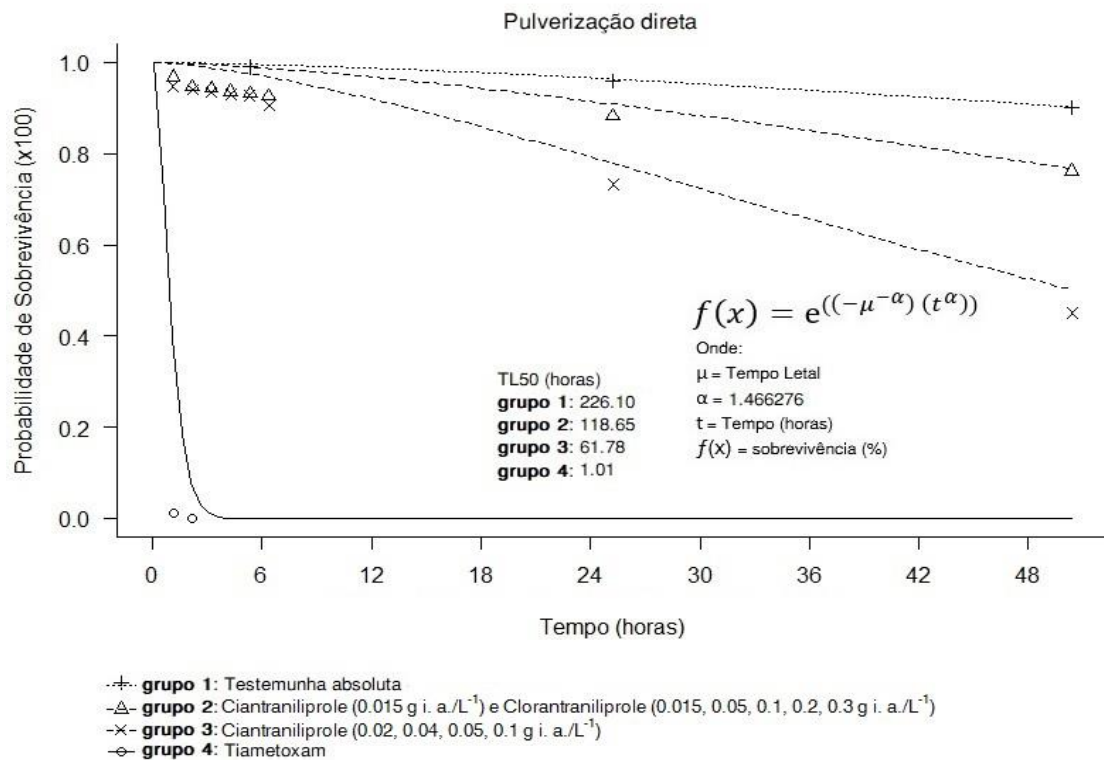


Figura 5. Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após pulverização direta com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022.

No bioensaio referente à ingestão de dieta contaminada com os inseticidas sobre *A. mellifera*, o Grupo 2 (Ciantraniliprole dose 0,015, 0,02, 0,04, 0,05, 0,1 g i.a L⁻¹ e Clorantraniliprole dose 0,015, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3 g i. a. L⁻¹), foram menos tóxicos por ingestão, apresentando a TL₅₀ de 113,60 h (Figura 6).

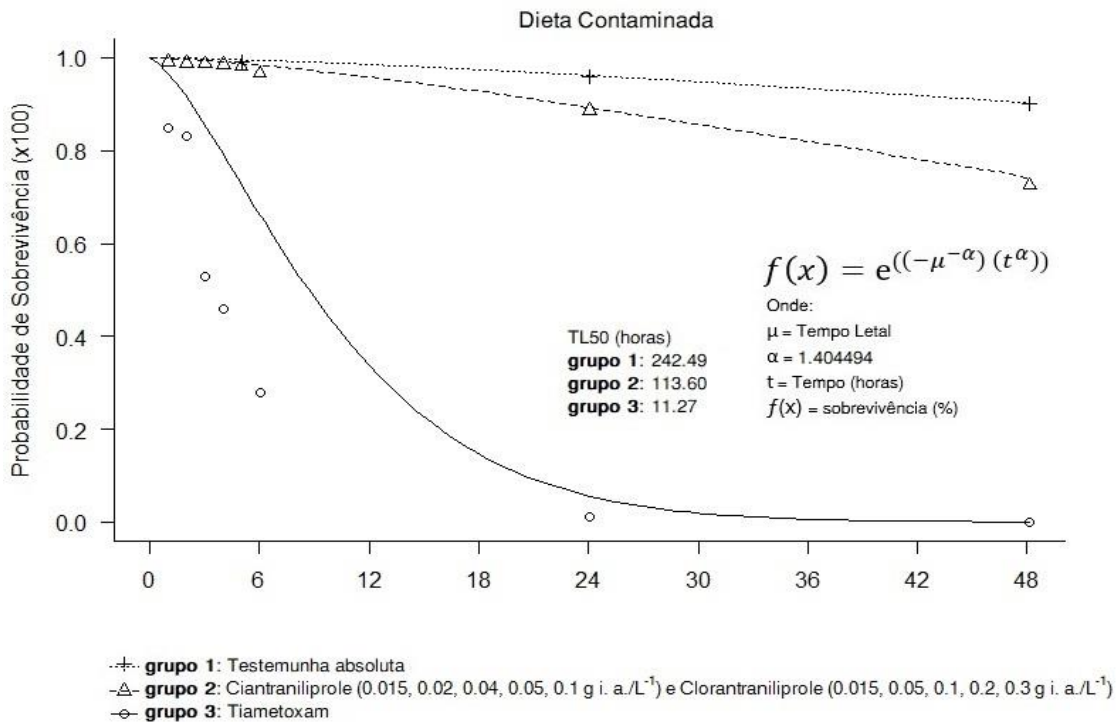


Figura 6. Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após ingestão de dieta contaminada com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022.

Os inseticidas Ciantraniliprole e Clorantraniliprole, em ambos os modos de exposição, apresentaram uma taxa e velocidade de mortalidade inferiores à testemunha positiva, o Tiametoxam, que é conhecido por ocasionar rápida mortalidade sobre abelhas (COSTA et al., 2014), ou seja, as antranilamidas forma menos nocivas ao polinizador. A mortalidade das abelhas após ingestão de resíduos desses inseticidas, mesmo que a índices baixos, pode ser explicada pelo modo de ação do grupo químico das antranilamidas, que por agir por ingestão ligam-se aos receptores de rianodina, afetando diretamente a função muscular, podendo causar redução da atividade locomotora e paralisia dos insetos (CORDOVA et al., 2006), efeitos observados durante o período de avaliação.

Dinter et al. (2015), constataram baixa toxicidade do inseticidas Ciantraniliprole, em diferentes modos de exposição, com DL₅₀ de 0,39 µg/abelha via oral e 0,63 µg/abelhas via contato direto, apresentando baixos riscos as abelhas. Porém, existem registros de efeitos subletais que podem comprometer o comportamento natural e o desempenho das abelhas *A. mellifera* nas suas atividades diárias. Kadala et. al. (2019), avaliando os efeitos de doses

subletais do Clorantraniliprole por meio de aplicação tópica no tórax de *A. mellifera*, constataram efeitos adversos, de longa duração, na locomoção da abelha, acarretando efeitos negativos à vida desses insetos. Gomes et al. (2020), avaliando a toxicidade de inseticidas utilizados na cultura do melão (*Cucumis melo* L), identificaram que o inseticida Clorantraniliprole apresentou uma baixa mortalidade para *A. mellifera*, via pulverização direta, ingestão de dieta contaminada e contato com superfície contaminada, diferindo dos demais inseticidas. Porém, foi constatado efeitos subletais, na avaliação da capacidade de voo das abelhas, na qual os indivíduos ficaram dispersos entre os diferentes níveis da torre, permanecendo na base e no último nível sugerindo que a exposição a inseticidas afeta a capacidade cognitiva, atrelada à orientação, memória e aprendizado, interferindo na capacidade de voo das abelhas. Além disso, outros estudos também relataram baixa toxicidade do inseticida Clorantraniliprole, nas dosagens mínima e máxima, via pulverização direta e dieta contaminada sobre *A. mellifera* (DINTER et al. 2009; EFROM et al. 2012; SMAGGHE et al. 2013). No entanto, são escassos os trabalhos referentes os efeitos letais e subletais dos inseticidas pertencentes ao grupo químico das antranilamidas.

Em relação ao efeito dos inseticidas sobre a capacidade de voo de *A. mellifera*, após ingestão de dieta contaminada, foi observado que após 1 hora, as abelhas expostas a 0,1 g i. a. L⁻¹ do inseticida Ciantraniliprole diferiu da testemunha absoluta (água destilada). Após 24h de exposição, foi notória a redução na porcentagem de abelhas que atingiram a altura máxima > 90 cm. Foi observado que 14 % e 9 % das abelhas expostas as 0,015 g i. a. L⁻¹ e 0,04 g i. a. L⁻¹, respectivamente, permaneceram na base da torre de voo somente caminhando, afetando a capacidade de voo das abelhas, diferindo das expostas somente a água destilada (testemunha absoluta). Após 48h, as abelhas expostas as doses 0,02 g i. a. L⁻¹ e 0,1 g i. a. L⁻¹, 11% e 10% respectivamente, conseguiram atingir a altura máxima > 90 cm. (Figura 7).

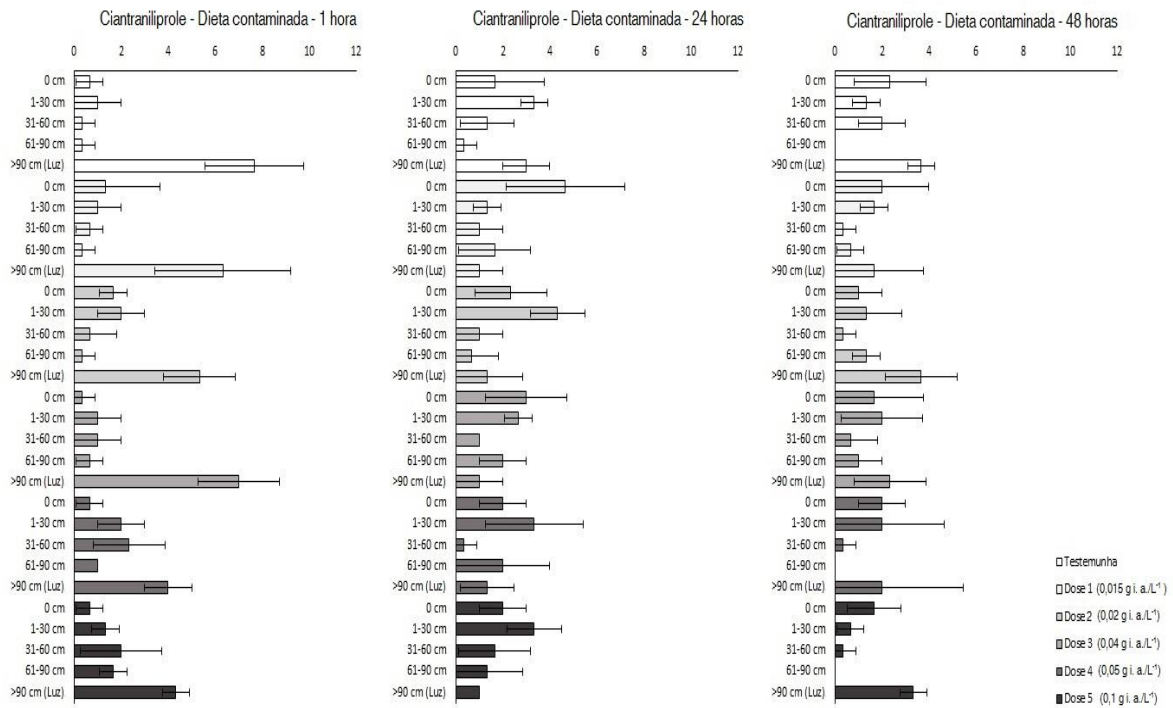


Figura 7. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Ciantraniliprole, 2022.

Em relação às abelhas expostas ao modo de exposição por pulverização direta, as abelhas expostas a maior dose ($0,1 \text{ g i. a.L}^{-1}$) do inseticida Ciantraniliprole, após 1h, 24h e 48h diferiram da testemunha absoluta. As abelhas expostas a dose $0,1 \text{ g i. a.L}^{-1}$, após 1 hora, 14 % permaneceram na base da torre de voo caminhando e após 24h de exposição, 10% das abelhas permaneceram na base. Após 48 horas, expostas a dose $0,1 \text{ g i. a.L}^{-1}$, 3% das abelhas permaneceram na base da torre de voo caminhando e 8% atingiram 30cm (Figura 8).

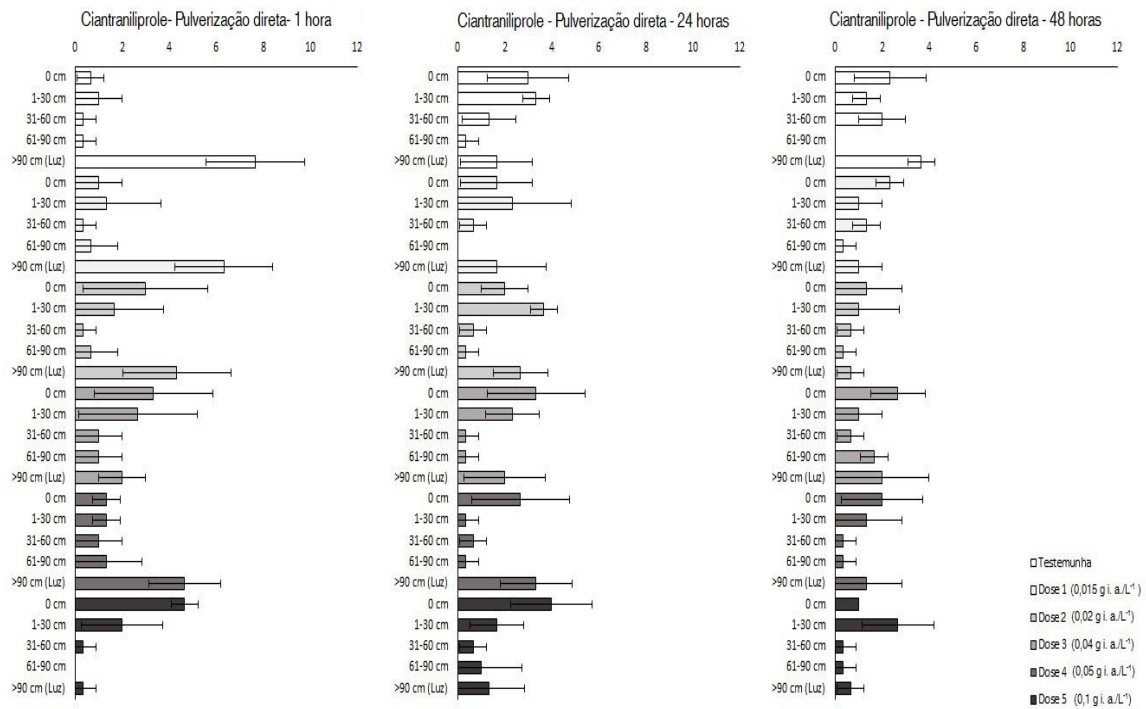


Figura 3. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta ao inseticida Ciantraniliprole, 2022.

Quanto ao efeito do Clorantraliniprole na capacidade de voo da abelha *A. mellifera*, expostas a ingestão da dieta contaminada, foi constatado que após 1 hora não diferiram da testemunha absoluta. Após 24h, as abelhas conseguiram atingir todos os níveis de altura de voo, sendo sua maior porcentagem entre 0 – 30 cm, em todas as doses testadas. Após 48h de exposição, não houve mudança no padrão geral de voo (Figura 9).

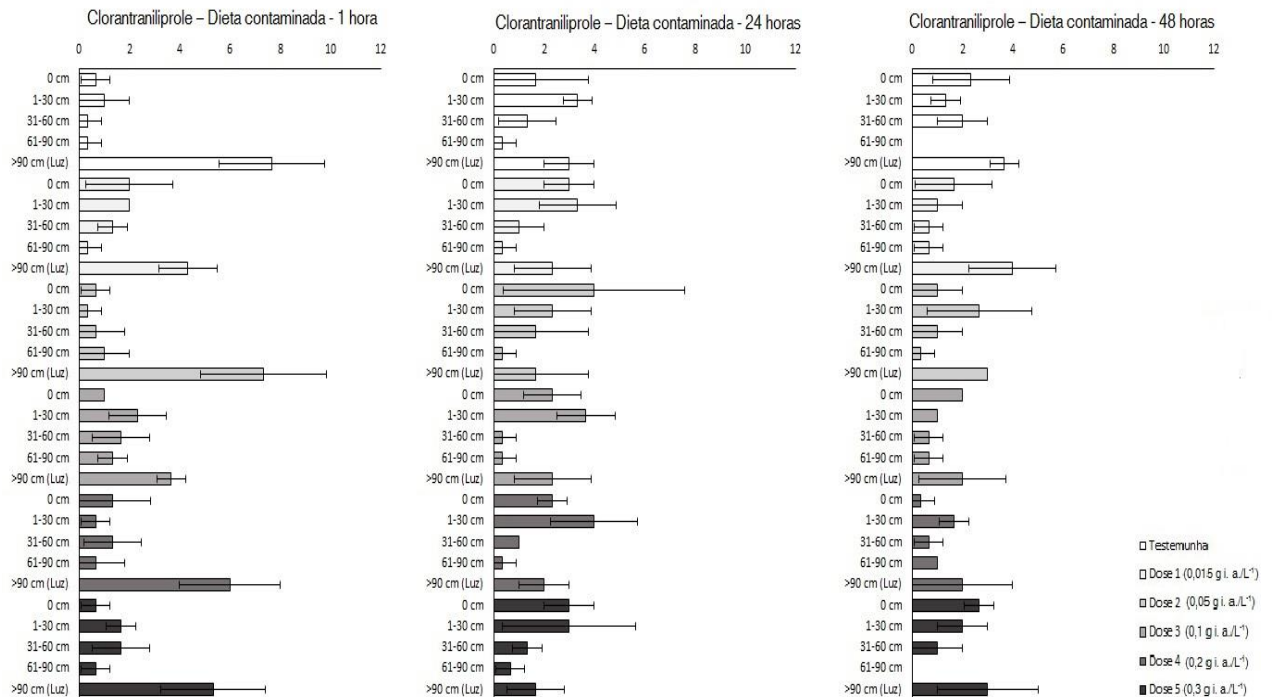


Figura 4. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Clorantroliniprole, 2022.

Quanto ao modo de exposição por pulverização direta ao inseticida Clorantroliniprole, após 1h de exposição 11% e 13% das abelhas conseguiram atingir a altura máxima (>90 cm), após exposição as doses 0,05 g i. a.L⁻¹ e 0,1 g i. a.L⁻¹, respectivamente. Após 24 horas foi observada redução no número de abelhas que atingiu a altura máxima, sendo verificado que a maioria das abelhas atingiu a altura de 30 cm, independente da dose. No entanto, após 48h de exposição as abelhas atingiram a altura máxima (>90 cm) nas cinco doses avaliadas (Figura 10). Em experimento realizado por Gomes et al. (2020), foi possível observar que também houve interferência na capacidade de voo, uma vez que o inseticida clorantroliniprole, nas concentrações 1.00 µL/L e 0.10 µL/L, via dieta contaminada, após 24 horas de exposição, os indivíduos permaneceram predominantemente na base da torre.

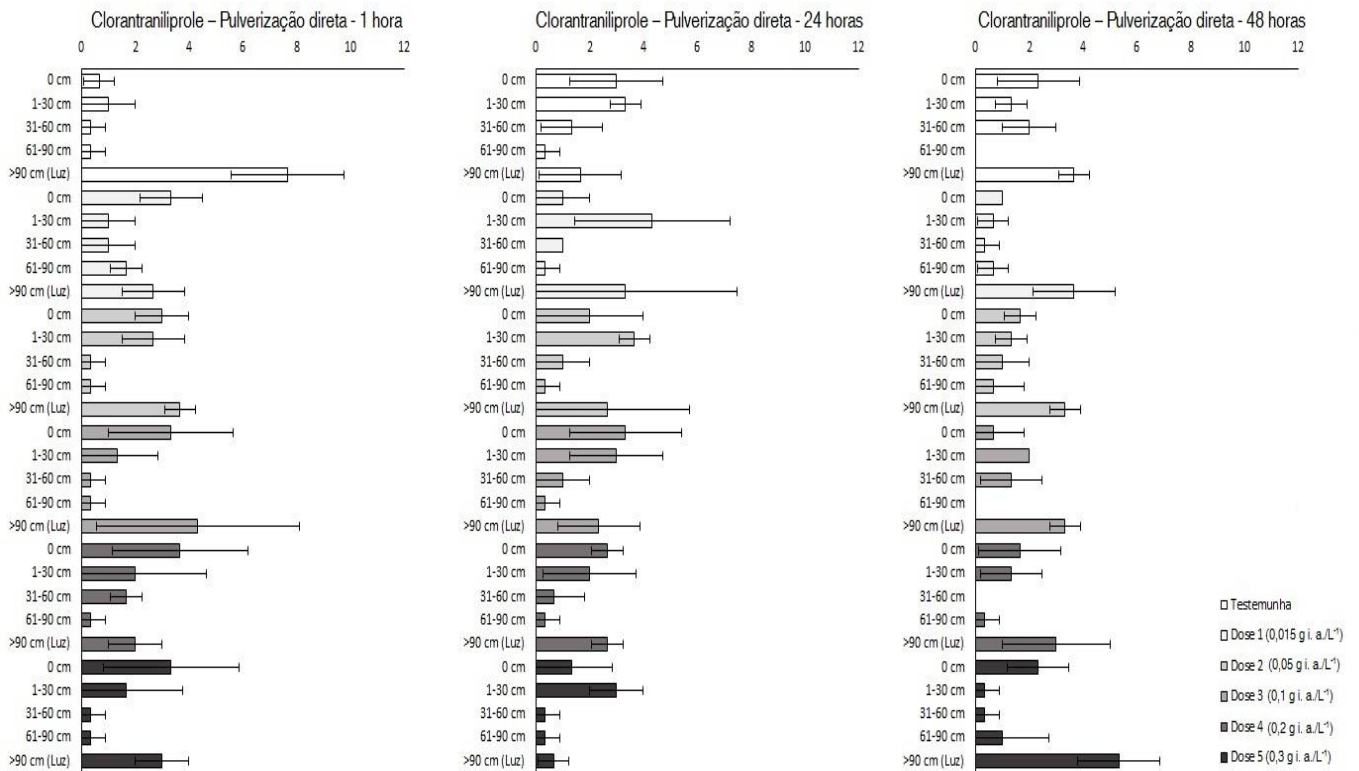


Figura 10. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta ao inseticida Clorantroliniprole, 2022.

A exposição aos inseticidas Clorantroliniprole e Ciantraniliprole, após pulverização e ingestão de dieta contaminada, afetou a capacidade de voo da abelha *A. mellifera*, ou seja, proporcionaram perda na capacidade motora do inseto. Mesmo não ocasionando a morte, alguns efeitos não letais como comprometimento de funções fisiológicas, mudanças de comportamento e funções cognitivas, e redução da capacidade de forrageamento, são muito prejudiciais as abelhas, pois pode comprometer a sobrevivência desses insetos e sua capacidade de agirem como polinizadores (DECOURTYE et al., 2005; BELZUNCES, TCHAMITCHIAN e BRUNET, 2012).

Os estudos já produzidos até hoje são extremamente relevantes, assim como os resultados obtidos neste trabalho, pois esclarecem questionamentos a respeito dos impactos na capacidade de voo das abelhas expostas a esses inseticidas, visto que o voo é essencial para a atividade de forrageio das abelhas, e a produção agrícola necessita do serviço de polinização. Portanto, qualquer alteração por exposição aos agrotóxicos, irá afetar a dinâmica da colônia e uma diminuição do desempenho das abelhas em campo (COLIN et al., 2004).

4 CONCLUSÕES

Os inseticidas Clorantraniliprole e Ciantraniliprole foram pouco tóxico para operárias adultas de *A. mellifera*, independente da dose utilizada e do modo de exposição.

A capacidade de voo da abelha *A. mellifera* foi afetada pelos inseticidas Ciantraniliprole e Clorantraniliprole, principalmente pelo modo de exposição por pulverização direta.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERINGER, J. DA S.; MACIEL, F. L.; TRAMONTINA, F. F. O declínio populacional das abelhas: causas, potenciais soluções e perspectivas futuras. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 5, n. 1, p. 17–26, 2019.
- BELZUNCES, L. P.; TCHAMITCHIAN, S.; BRUNET, J. L. Neural effects of insecticides in the honeybee. **Apidologie**, Versailles, v. 43, n. 3, p. 348-370, 2012.
- BLETTLER, D. C.; FAGÚNDEZ, G. A.; CAVIGLIA, O. P. Contribution of honeybees to soybean yield. **Apidologie**, v. 49, p. 101–111, 2018.
- CASTILHOS, D.; BERGAMO, G. C.; GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES L. S. Bee Colony losses in Brazil: a 5-year online survey. **Apidologie**, v.50, n. 3, p. 263-272, 2019.
- COLIN, M.E.; BONMATIN, J.M., MOINEAU, I., GAIMON, C., BRUN, S.A.; VERMANDERE, J.P. A method to quantify and analyze the foraging activity of honeybees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. **Archives of Environmental Contamination Toxicology**. v.47, p.387-395, 2004.
- COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MAIA, A. V. P.; SILVA, F. E. L.; BEZERRA, C. E. S.; SILVA, J. G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie**, v. 45, n. 1, p. 34-44, 2014.
- CORDOVA, D.; BENNER, E. A.; SACHER, M. D.; RAUH, J. J.; SOPA, J. S.; LAHM, G. P.; SELBY, T. B.; STEVENSON, T. M.; FLEXNER, L.; GUTTERIDGE, S.; RHOADES, D. F.; WU, L.; SMITH, R. M.; TAO, Y. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, n. 3, p. 196-214, 2006.
- CHRISTEN, V.; FENT, K. Exposure of honey bees (*Apis mellifera*) to different classes of insecticides exhibit distinct molecular effect patterns at concentrations that mimic environmental contamination. **Environmental Pollution**, v. 226, p. 48-59, 2017.
- DINTER, A.; BRUGGER, K. E.; FROST, N. M.; WOODWARD, M. D. **Chlorantraniliprole (Rynaxypyr): A novel DuPont™ insecticide with low toxicity and low risk for honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus terrestris*) providing excellent tools for uses in integrated pest management**. Julius-KühnArchiv, Berlin, n. 423, p. 84-96, 2009.
- DINTER, A.; SAMEL, A. Cyantraniliprole: pollinator profile of the novel insecticides under laboratory, semi-field and field conditions. **Julius-Kühn-Archive**, n. 450, p. 28-49, 2015.
- DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J.; GENECQUE, E.; LE MENACH, K.; BUDZINSKI, H.; CLUZEAU, S.; PHAM-DELÈGUE, M. H. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 48, n. 2, p. 242-250, Feb. 2005.
- EFROM C.F.S., REDAELLI L.R., MEIRELLES R.N., OURIQUEC.B. Sideeffects of

pesticides used in the organic system of production on *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. **Braz Arch Biol Technol**.n.55, p.47–53, 2012.

FISCHER J, MÜLLER T, SPATZ AK, GREGGERS U, GRÜNEWALD B, MENZEL R. Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees. **PLoS ONE**. v. 9, n.3, 2014.

GOMES, R. V. R. S.; ROCHA, L. B.; MIRANDA, M. E.; LIMA FILHO, E. N.; ALBUQUERQUE, J. G. S. S.; SOMBRA, D. S. Manutenção de colônias *Apis mellifera* no período de escassez de alimento. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 3, 2019.

GOMES, I. N.; VIEIRA, K. I. C.; GONTIJO, L. M.; RESENDE, H. C. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 1, p. 97 – 107, 2020.

JACOB, C. R. O.; ZANARDI, O. Z.; MALAQUIAS, J. B.; SILVA, C. A. S.; YAMAMOTO, P. T. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 2019.

KAHLOW, C. et al. Atendimento à suspeita de intoxicação por agrotóxicos em apicultura no centro-sul do paraná. **MV & Z**, v. 14, n. 2, p. 73, 2016.

REILLY, J. R.; ARTZ, D. R.; BIDDINGER, D.; BOBIWASH, K.; BOYLE, N. K.; BRITTAIN, C.; BROKAW, J.; CAMPBELL, J. W.; DANIELS, J.; ELLE, E.; ELLIS, J. D.; FLEISCHER, S. J.; GIBBS, J.; GILLESPIE, R. L. GUNDERSEN, K. B.; GUT, L.; HOFFMAN, G.; JOSHI, N.; LUNDIN, O.; MASON, K. MCGRADY, C. M.; PETERSON, S. S.; PITTS-SINGER, T. L.; RAO, S.; ROTHWELL, N.; ROWE, L.; WARD, K. L.; WILLIAMS, N. M.; WILSON, J. K.; ISAACS, R.; WINFREE, R. Crop production in the USA is frequently limited by a lack of pollinators. **Proc. R. Soc.**, n. 287, p. 1-9, 2020.

RELATÓRIO TEMÁTICO SOBRE POLINIZA O, POLINIZADORES E PRODU O DE ALIMENTOS NO BRASIL- BPBES/REBIPP. WOLOWSKI, M.; AGOSTINI, K.; RECH, A;VARASSIN, G.I.; et al. (eds). 1  edic o, São Carlos, SP: Editora Cubo. BPBES/REBIPP, p.184, 2019.

ROUBIK, D. W. **The pollination of cultivated plants: a compendium for practitioners**. Roma: Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO), 2018.

SANTOS, A. M. M.; MENDES, E. C. Abelha africanizada (“*Apis mellifera*” L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. **Revista Sustinere**, v. 4, n. 1, p. 117-143, 2016.

SÁNCHEZ-BAYO,F.;WYCKHUYS,K.A.G.Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. **Biological Conservation**, v. 232, p. 8–27, 2019.

SATTELLE D. B.; CORDOVA D. E.; CHEEK T. R. Insect ryanodine receptors: molecular targets for the best control chemicals. **Invertebr Neurosci**, n. 8, p. 107–119, 2008.

SILVA, M. G.; ANDRADE, W. C.; MEDEIROS, W. P.; SILVA, G. V.; MOURA SILVA, K. J.; SILVA, R. A.; MARACAJÁ, P. B. Análise dos aspectos morfométricos de abelhas africanizadas em ambiente de Caatinga (Brasil). **Meio Ambiente** (Brasil), v. 2, n. 2, 2020.

SMAGGHE, G.; DEKNOPPER, J.; MEEUS, I.; MOMMAERTS, V. Dietary chlorantraniliprole suppresses reproduction in worker bumblebees. **Pest Management Science**, Sussex, v. 69, n. 7, p. 787-791, 2013.

CAPÍTULO 2

SOBREVIVÊNCIA E CAPACIDADE DE VOO DA ABELHA *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO DIRETA E ORAL A DIFERENTES DOSES DOS INSETICIDAS ESPINETORAM E ESPINOSADE

Resumo: os inseticidas estão entre os principais fatores que acarretam o desaparecimento das abelhas, principalmente da *A. mellifera*, considerada um polinizador economicamente e ecologicamente valioso. As abelhas melíferas são mais usadas em serviço de polinização por sua eficiência principalmente na polinização de plantas cultivadas. No entanto, o uso excessivo de agrotóxicos tem colaborado com o desaparecimento de abelhas em áreas florestais e agrícolas. A intoxicação decorrente desta exposição pode ser letal ou causar efeitos adversos na fisiologia e no comportamento do inseto. Portanto, objetivou-se, neste trabalho, avaliar a toxicidade dos inseticidas Espinetoram (Delegate[®]) e Espinosade (Tracer[®]) ambos do grupo das Espinosinas, na sobrevivência e capacidade de voo da abelha africanizada *A. mellifera*. Os Bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Entomologia (sala climatizada a 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h) do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande. Operárias adultas da abelha *A. mellifera* foram utilizadas, provenientes de três colmeias instaladas em caixas de madeira do tipo Langstroth, pertencentes ao apiário do CCTA/UFCG. Para avaliar a toxicidade, foram testadas cinco doses comerciais do inseticida Espinetoram (0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.1 g i. a. L⁻¹) e do inseticida Espinosade (0.024, 0.048, 0.096, 0.12, 0.144 g i. a. L⁻¹), registradas para o controle de pragas em diversas culturas. Os efeitos dos inseticidas foram testados em dois modos de exposição: pulverização direta dos inseticidas sobre as abelhas e o fornecimento de dieta contaminada. O tratamento testemunha constou de uma solução à base de água destilada. Os inseticidas Espinetoram e Espinosade foram extremamente tóxicos para *A. mellifera* via pulverização direta, ocasionando mortalidade de 100% das abelhas, assim como, quando fornecido via ingestão de dieta contaminada, com mortalidade de 90,02% Espinetoram e 90,14% Espinosade. Ambos os inseticidas afetaram a atividade de voo de *A. mellifera*, independentemente do modo de exposição e dose avaliada.

Palavras chaves: Polinizador. Espinosinas. Toxicidade. Mortalidade.

**SURVIVAL AND FLIGHT CAPACITY OF THE BEE *Apis mellifera* AFTER
DIRECT AND ORAL EXPOSURE TO DIFFERENT DOSES OF SPINETORAM
AND SPINOSADE INSECTICIDES**

Abstract: insecticides are among the main factors that cause the disappearance of bees, especially *A. mellifera*, considered an economically and ecologically valuable pollinator. Honey bees are most used in pollination services for their efficiency, especially in pollinating cultivated plants. However, the excessive use of pesticides has contributed to the disappearance of bees in forest and agricultural areas. Poisoning resulting from this exposure can be lethal or cause adverse effects on the insect's physiology and behavior. Therefore, the objective of this work was to evaluate the toxicity of the insecticides Espinetoram (Delegate[®]) and Espinosade (Tracer[®]), both from the Spinosines group, on the survival and flight capacity of the Africanized bee *A. mellifera*. Bioassays were carried out in the Entomology Laboratory (heated room at 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ RH and 12 h photophase) of the Agro-Food Science and Technology Center of the Federal University of Campina Grande. Adult workers of the *A. mellifera* bee were used, coming from three hives installed in Langstroth wooden boxes, belonging to the CCTA/UFCG apiary. To assess toxicity, five commercial doses of the Espinetoram insecticide (0.02, 0.03, 0.04, 0.05 and 0.1 g i. a./L⁻¹) and of the Espinosad insecticide (0.024, 0.048, 0.096, 0.12 and 0.144 g i. a./L⁻¹), recorded for pest control in different crops. The effects of insecticides were tested in two exposure modes: direct spraying of insecticides on bees and supplying a contaminated diet. The control treatment consisted of a solution based on distilled water. The insecticides Espinetoram and Espinosade were extremely toxic to *A. mellifera* via direct spraying, causing 100% mortality of bees, as well as, when supplied via contaminated diet, with mortality of 90.02% Espinetoram and 90.14% Espinosade. Both insecticides affected the flight activity of *A. mellifera*, regardless of the exposure mode and dose evaluated.

Keywords: Pollinator. Spinosines. Toxicity. Mortality.

1 INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos essenciais para polinização e manutenção dos ecossistemas terrestres (PANDEY; GURR, 2019). O serviço de polinização consiste na transferência do pólen das anteras para o estigma da mesma flor ou de outra flor da mesma espécie, sendo esta, a principal contribuição econômica das abelhas melíferas para a qualidade e produtividade do setor agrícola, seja no âmbito regional ou global (TEIXEIRA, MARINHO e PAULINO, 2014; GARIBALDI et al., 2016). Pesquisas demonstram que o número de visitas e o comportamento das abelhas nas flores, influenciam diretamente na frutificação e no cultivo de frutos com melhor qualidade (NASCIMENTO et al., 2012; TOLEDO et al., 2013). Além disso, das 124 culturas utilizadas na alimentação humana, 70% dependem da polinização realizada por insetos para produzirem frutos e sementes (RAMIREZ et al., 2018).

A abelha *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) é um dos principais polinizadores utilizados para polinização de cultivos no mundo (HUNG et al., 2018; DAI et al., 2019;). O sucesso dessa espécie na produção agrícola está atrelado a sua população com milhares de indivíduos por colmeia, seu caráter generalista e seu fácil manejo. Diante disso, o interesse dos apicultores por essa espécie tende a crescer, gerando emprego e renda através da exploração dos produtos apícolas. Nos Estados Unidos, 2,5 milhões de colmeias da *A. mellifera* foram usadas para polinização agrícola em 2020, assegurando altas produtividades e gerando uma renda extra no campo de U\$254 milhões em serviços de polinização (A.B.E.L.H.A, 2022).

No entanto, a crescente expansão das áreas urbanas, das áreas agrícolas e o uso excessivo de agrotóxicos, têm diminuído a diversidade e a disponibilidade das abelhas, comprometendo seu habitat e reduzindo consideravelmente os recursos florais e a reprodução desses agentes polinizadores (SÍLVIA et al., 2016), trazendo sérios impactos sobretudo para a agricultura. Diante disso, cresce o interesse dos pesquisadores para determinar as causas da mortalidade e do declínio das abelhas, em especial *A. mellifera* (GOULSON et al., 2015). Estas informações são ainda mais relevantes quando se leva em consideração a especificidade de ação e o nível de toxicidade de cada agrotóxicos aos organismos (ZHU et al., 2015).

No Brasil, aproximadamente 70% dos estudos toxicológicos sobre abelhas focam na espécie *A. mellifera* (NOCELLI et al., 2012), entretanto ainda são escassas informações sobre a toxicidade de muitos inseticidas, especialmente em diferentes modos de exposição e doses. Para os inseticidas Espinosade e Espinetoram, que são registrados para o controle de diversas pragas agrícolas como, por exemplo, melão (*Cucumis melo* L.), goiaba (*Psidium guajava* L.) e abóbora (*Cucurbita moschata* Duch.) (AGROFIT, 2022), poucas informações são encontradas

na literatura. O estudo realizado por Carmo et al. (2017) sobre a toxicidade do inseticida Espinetoram por ação de contato em brássicas para *A. mellifera*, observaram uma taxa de 100 % de mortalidade após 48h de exposição. Lopes et al. (2018), avaliaram a toxicidade oral do inseticida Espinosade, na dose recomendada para campo de 0,816 mg / mL para operárias de *A. mellifera*, e constataram que, o produto foi extremamente tóxico, ocasionando 100% de mortalidade ao final do período de avaliação.

Diante da problemática mundial que envolve o declínio populacional das abelhas, tendo em vista a sua importância econômica e para a manutenção da biodiversidade, se faz necessário pesquisas que expliquem os efeitos letais e subletais de doses comerciais de inseticidas em diferentes formas de exposição. Sendo assim, objetivou-se avaliar a sobrevivência e a capacidade de voo das operárias adultas da espécie *A. mellifera* após exposição direta e oral a diferentes doses dos inseticidas Espinosade e Espinetoram.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DOS EXPERIMENTOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal – PB.

2.2 OBTENÇÃO E SELEÇÃO DOS INSETOS PARA EXPERIMENTAÇÃO

Espécimes de abelhas *A. mellifera* foram coletadas de 03 colmeias instaladas em caixas de madeira do tipo Langstroth, pertencentes ao apiário do CCTA/UFCG. Para experimentação, foram coletadas diretamente das caixas selecionadas, abelhas operárias na fase adulta.

2.3 CONDUÇÃO DOS BIOENSAIOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Nos experimentos, foram feitos testes toxicológicos dos inseticidas Espinetoram (Delegate[®]) e Espinosade (Tracer[®]), ambos pertencentes ao grupo químico das Espinosinas. Foram avaliadas cinco doses de cada inseticida, seguindo as recomendações contidas na bula de cada produto. As doses selecionadas são registradas para o controle de pragas em diversas culturas, como por exemplo: acerola (*Malpighia emarginata* DC.), alho (*Allium sativum* L.),

caju (*Anacardium occidentale* L.), cebola (*Allium cepa* L.), goiaba (*Psidium guajava* L.), maçã (*Pirus malus* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), melão (*Cucumis melo* L.), tomate (*Solanum lycopersicon* L.), pimenta (*Capsicum spp.*) e pimentão (*Capsicum annuum* L.) (AGROFIT, 2022). Como testemunha absoluta foi utilizada água destilada e como testemunha positiva foi utilizado o inseticida Tiametoxam (Actara® 250 WG) na dose máxima recomendada pelo fabricante para cultura do meloeiro. Para os cálculos de diluição dos inseticidas foi considerado como base um volume médio de aplicação de 500 L/ha, sendo mantidas as proporções de g i.a./L de calda. Detalhes de cada inseticida e doses utilizadas são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Inseticidas e respectivas doses avaliadas com relação à toxicidade sobre abelhas *Apis mellifera*, expostas a pulverização direta e por ingestão de dieta contaminada, Pombal – PB, 2022.

INGREDIENTE ATIVO	GRUPO QUÍMICO	DOSE AVALIADA	PRAGA ALVO
Espinetoram	Espinosinas	0,02 g i. a. L ⁻¹	<i>Diaphania nitidalis</i>
		0,03 g i. a. L ⁻¹	<i>Liriomyza trifolii</i>
		0,04 g i. a. L ⁻¹	
		0,05 g i. a. L ⁻¹	
		0,1 g i. a. L ⁻¹	
Espinosade	Espinosinas	0,024 g i. a. L ⁻¹	<i>Liriomyza huidobrensis</i>
		0,048 g i. a. L ⁻¹	<i>Helicoverpa armigera</i>
		0,096 g i. a. L ⁻¹	
		0,12 g i. a. L ⁻¹	
		0,144 g i. a. L ⁻¹	
Tiametoxam	Neonicotinóide	0,30 g i. a. L ⁻¹	<i>Bemisia tabaci</i> Biótipo B <i>Aphis gossypii</i>

O efeito letal dos inseticidas Espinetoram e Espinosade sobre *A. mellifera* foi avaliado por meio de dois bioensaios distintos, correspondentes a duas formas de exposição das abelhas aos produtos, sendo estas: pulverização direta sobre as abelhas e ingestão de dieta contaminada (via oral) pelos inseticidas, seguindo a metodologia utilizada por Costa et al. (2014). Como forma de facilitar o manuseio durante a preparação dos bioensaios, as abelhas foram previamente anestesiadas por meio do uso do frio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$ durante 90 segundos).

Na realização dos dois bioensaios, as abelhas foram confinadas em arenas (recipientes plásticos com 15 cm de diâmetro x 15 cm de altura), vedadas parcialmente na extremidade superior com tela antiafídeo e as laterais com aberturas de aproximadamente 0,1 cm para proporcionar a circulação de ar adequada no ambiente. Em cada arena foi ofertado para alimentação pasta Cândi (dieta artificial de açúcar refinado + mel) em recipientes plásticos de 28 mm de diâmetro e água embebida em algodão hidrófilo (hidratado a cada hora de avaliação).

Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, composto por 12 tratamentos [T1 – Testemunha absoluta (água destilada); T2 – Testemunha positiva (Tiametoxam 0,30 g i. a. L⁻¹); T3 – Espinetoram dose 1 (0,02 g i. a. L⁻¹); T4 – Espinetoram dose 2 (0,03 g i. a. L⁻¹); T5 – Espinetoram dose 3 (0,04 g i. a. L⁻¹); T6 – Espinetoram dose 4 (0,05 g i. a./L⁻¹); T7 – Espinetoram dose5 (0,1 g i. a. L⁻¹); T8 – Espinosade dose 1 (0,024 g i. a. L⁻¹); T9 – Espinosade dose 2 (0,048 g i. a. L⁻¹); T10 – Espinosade dose 3(0,096 g i. a. L⁻¹);T11 – Espinosade dose 4 (0,12 g i. a. L⁻¹); T12 – Espinosade dose 5 (0,144 g i. a. L⁻¹)], onde cada tratamento foi distribuído em dez repetições, com a parcela (arena) constituída por 10 operárias adultas de *A. mellifera*. A execução de todos os bioensaios foram realizados em sala climatizada a 25 ± 2 °C, $60 \pm 10\%$ UR e fotoperíodo de 12 h.

Após a aplicação dos tratamentos foram avaliadas a mortalidade e o comportamento das abelhas, em horários de observação padronizados, a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24 e 48 horas após o início da exposição aos inseticidas. Para avaliação comportamental dos insetos, foram analisados padrões como prostração, tremores e paralisia, sendo monitorado e registrado a partir dos primeiros 60 minutos após a aplicação, até o final das 48 horas de avaliação. As abelhas foram consideradas mortas quando não apresentaram movimentos no momento das observações, mesmo quando recebia estímulos mecânicos (toques no corpo com pincel de cerdas finas).

2.3.1 Bioensaio 1: pulverização direta dos inseticidas sobre *Apis mellifera*

Nas arenas, as abelhas foram submetidas à exposição dos inseticidas, de acordo com cada tratamento estabelecido, usando-se a técnica de pulverização direta, com o auxílio de um pulverizador manual, simulando uma provável situação via pulverização em campo. Após a contaminação, foram avaliados os efeitos dos inseticidas sobre as abelhas durante o período de 48 horas.

2.3.2 Bioensaio 2: Fornecimento de dieta contaminada com os inseticidas para *Apis mellifera*

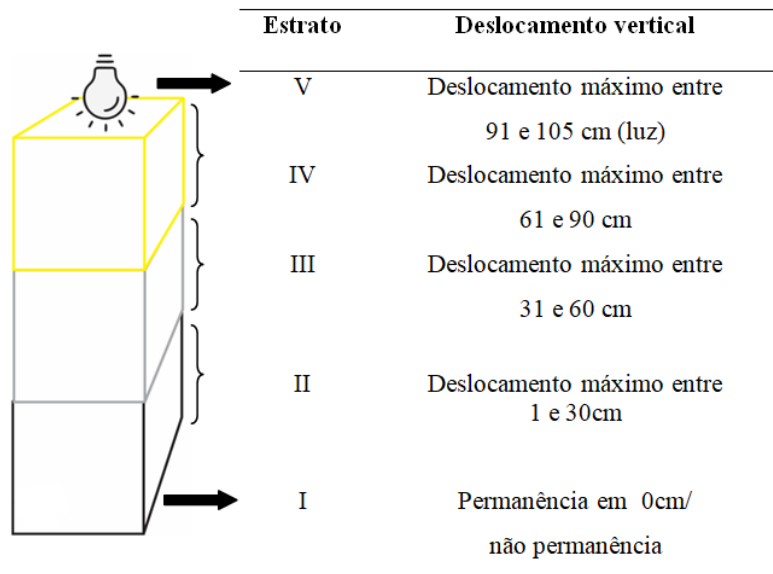
Para avaliar a toxicidade oral dos inseticidas sobre *A. mellifera*, inicialmente foi preparada a dieta artificial (pasta Cândi), e posteriormente os tratamentos foram pulverizados sobre a dieta com auxílio de um pulverizador manual, simulando uma situação de campo. Em seguida, com as abelhas já distribuídas, a dieta contaminada foi inserida nas arenas, juntamente com algodão embebido em água destilada. Após a introdução da dieta contaminada, as abelhas ficaram sob observação até que se obteve a confirmação da ingestão do alimento, sendo avaliados os efeitos dos inseticidas, de maneira constante, nas primeiras seis horas, até o período de 48 horas.

2.3.3 Avaliação da capacidade de voo de *Apis mellifera* após exposição direta e oral aos inseticidas

Após os bioensaios de mortalidade, foi realizada avaliação da capacidade de voo das abelhas seguindo a metodologia utilizada por Gomes et al. (2020). Para avaliação da capacidade de voo foram realizados dois bioensaios que corresponderam aos modos de exposição direta e oral aos inseticidas Espinetoram e Espinosade, utilizando as mesmas doses descritas anteriormente. A capacidade de voo foi avaliada a 1h, 24h e 48h após o início da exposição aos inseticidas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído por 12 tratamentos e 30 repetições, sendo cada unidade experimental constituída por uma abelha adulta.

A capacidade de voo foi avaliada com auxílio de uma torre de voo, em sala escura, com temperatura média de 25 ± 2 °C e umidade relativa do ar de $60 \pm 10\%$, contendo uma fonte luminosa no topo da torre, com o objetivo de atrair as abelhas por meio do fototropismo positivo. A torre de voo era de madeira ($35 \times 35 \times 115$ cm de altura), aberta no seu interior, com uma lâmpada fluorescente no topo, uma fita métrica e com as laterais transparente para permitir a visualização do voo das abelhas. As abelhas sobreviventes após 1h, 24h e 48h de exposição, direta ou oral, foram liberadas individualmente na base da torre (altura 0 cm), e seu deslocamento foi avaliado por 60 segundos para a conclusão do voo, marcando o estrato máximo atingido. Posteriormente as abelhas foram liberadas. A torre de voo apresentou cinco

níveis de altura, conforme Figura 1.



Fonte: Autoria própria, 2022

Figura 5. Ilustração da torre de voo e classificação dos estratos, de acordo com o comportamento das abelhas na avaliação da atividade de voo.

2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Para o teste de mortalidade, as médias foram corrigidas pela fórmula de Abbott (1925), em seguida aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (1952) a 5% de significância, seguido pelo teste de Wilcoxon. Os dados de sobrevivência das abelhas foram analisados utilizando o pacote “survival” (THERNEAU; LUMLEY, 2010) para o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010) e submetidos a uma distribuição Weibull, sendo em seguida agrupados por meio de contrastes os tratamentos com efeitos similares de toxicidade e velocidade de mortalidade. Também foi calculado o tempo letal mediano (TL₅₀) para cada grupo. Em relação a capacidade de voo, para verificar se os tratamentos afetaram a quantidade de abelhas que atingiram cada classe de altura foi aplicada uma Análise de Variância com Permutação (PERMANOVA). Esta análise é adequada para dados que não satisfazem os pressupostos de testes paramétricos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os inseticidas Espinetoram e Espinosade, via pulverização direta sobre *A. mellifera*, ocasionaram a morte de 100% das abelhas nas cinco doses avaliadas, sendo estatisticamente igual à testemunha positiva, o inseticida Tiametoxam (Figura 2), que é um produto comprovadamente nocivo a referida abelha (COSTA et al., 2014).

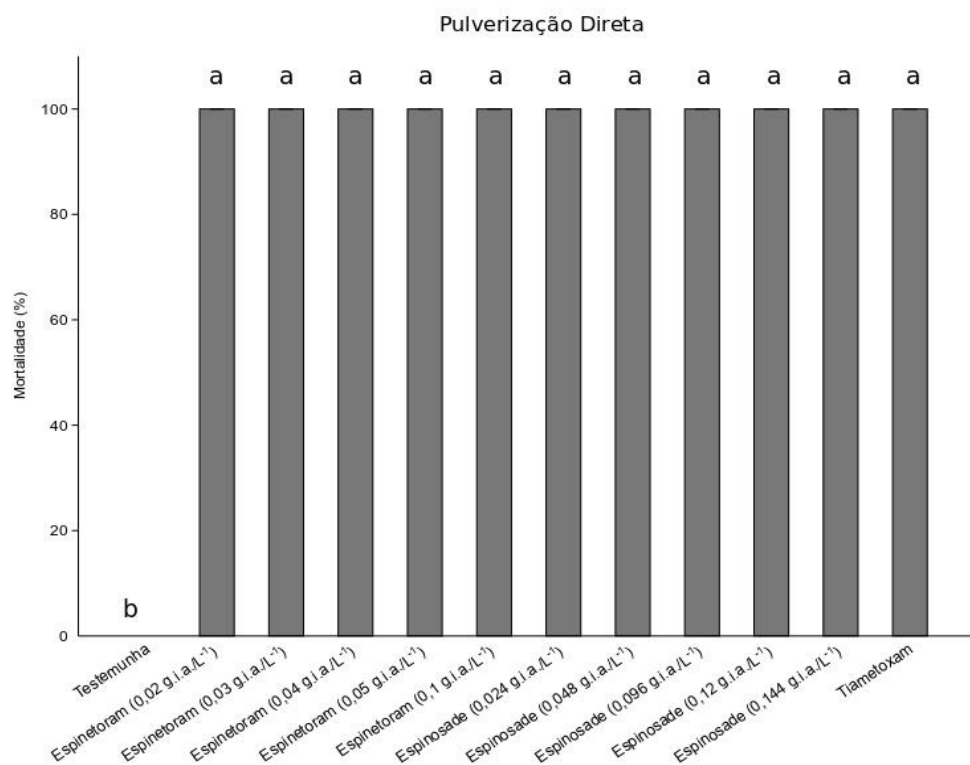


Figura 2. Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta aos inseticidas Espinetoram e Espinosade, Pombal – PB, 2022.

*Sobre as barras letras diferentes representam diferenças significativas de acordo com o teste de Wilcoxon ao nível de 5% de significância.

Para a exposição oral, o inseticida Espinetoram ocasionou mortalidade entre 88,3 e 96,3% das abelhas e o inseticida Espinosade entre 84,2 e 98,8%. As doses 0.02, 0.04, 0.05 e 0.1 g i. a.L⁻¹ do Espinetoram e 0.096, 0.12 e 0,144 g i. a.L⁻¹ do Espinosade não diferiram estatisticamente da testemunha positiva(Tiametoxam), ocasionando 88,3, 88,3, 88,8, 96,3% e 88,3, 95,3 ,98,8 % de mortalidade sobre *A. mellifera*, respectivamente (Figura 3). A alta mortalidade das abelhas expostas a esses inseticidas, pode estar relacionado ao modo de ação das Espinosinas, que atuam no sistema nervoso central dos insetos, especificamente em sítios alostéricos nos receptores nicotínicos de acetilcolina, resultando na transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, acarretando no inseto tremores contínuos e intensa excitação. Após o período de excitação, os insetos ficam paralisados pela fadiga muscular, e posteriormente morrem (IRAC, 2019), efeitos observados durante o período de avaliação.

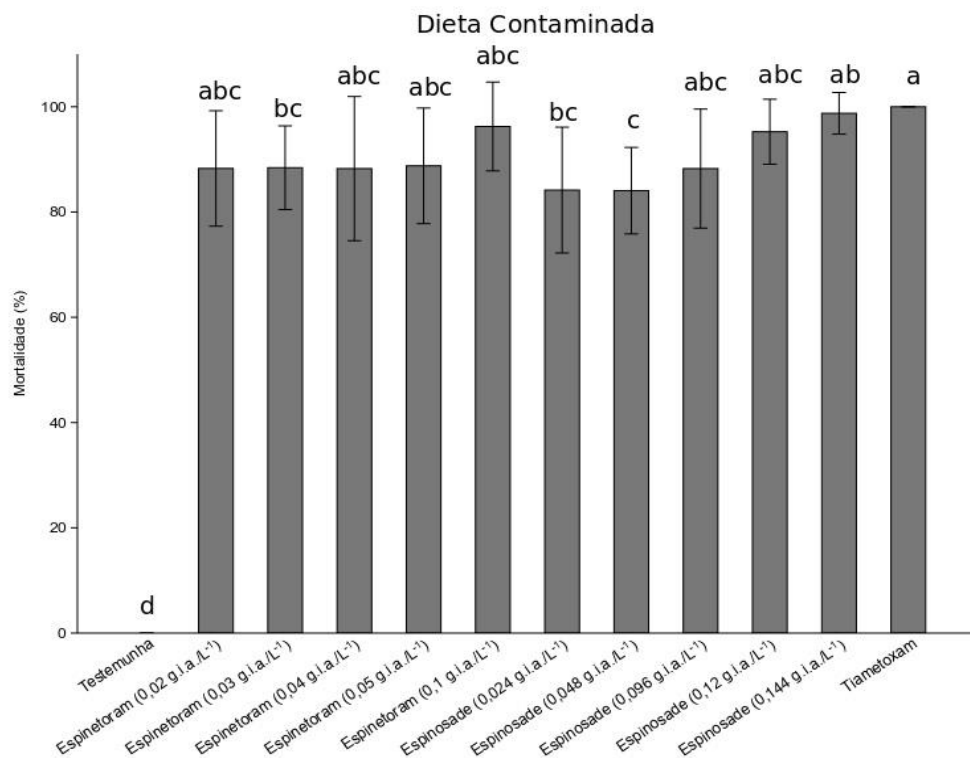


Figura 3. Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada aos inseticidas Espinetoram e Espinosade, Pombal – PB, 2022.

*Sobre as barras letras diferentes representam diferenças significativas de acordo com o teste de Wilcoxon ao nível de 5% de significância.

Comparando-se as dosagens dos inseticidas Espinectoram e Espinosade pelo dois modos de exposição, dieta contaminada e pulverização direta, ambos demonstraram que a *A. mellifera* é extremamente susceptível aos inseticidas. Independente da via de exposição, os inseticidas nas cinco doses testadas foram extremamente tóxicos. Porém, os resultados mostraram que os inseticidas foram mais tóxicos para as abelhas quando expostos via pulverização direta, ocasionando a morte de 100% das abelhas (Figura 4). Durante a avaliação, as abelhas expostas aos inseticidas mostraram sinais de intoxicação em ambos os modos de exposição, como tremores nas pernas e asas, agitação e paralisia, o que não foi observado na testemunha absoluta.

Segundo Del Sarto et al. (2014), a taxa de mortalidade de determinados pesticidas é influenciada pelo modo de exposição ao qual os insetos foram submetidos, sendo a via oral através de dieta contaminada, onde o trato digestório recebe as moléculas do agente contaminante, mais sensível aos pesticidas do que a exposição via tópica. No entanto, no presente estudo o modo de pulverização direta ocasionou rapidamente a morte de 100% das abelhas independente da dose, sendo tão letal quanto o Tiametoxam (testemunha positiva), comprovado os efeitos letais do produto para *A. mellifera* (COSTA et al., 2014; PIZZAIA et al., 2021).

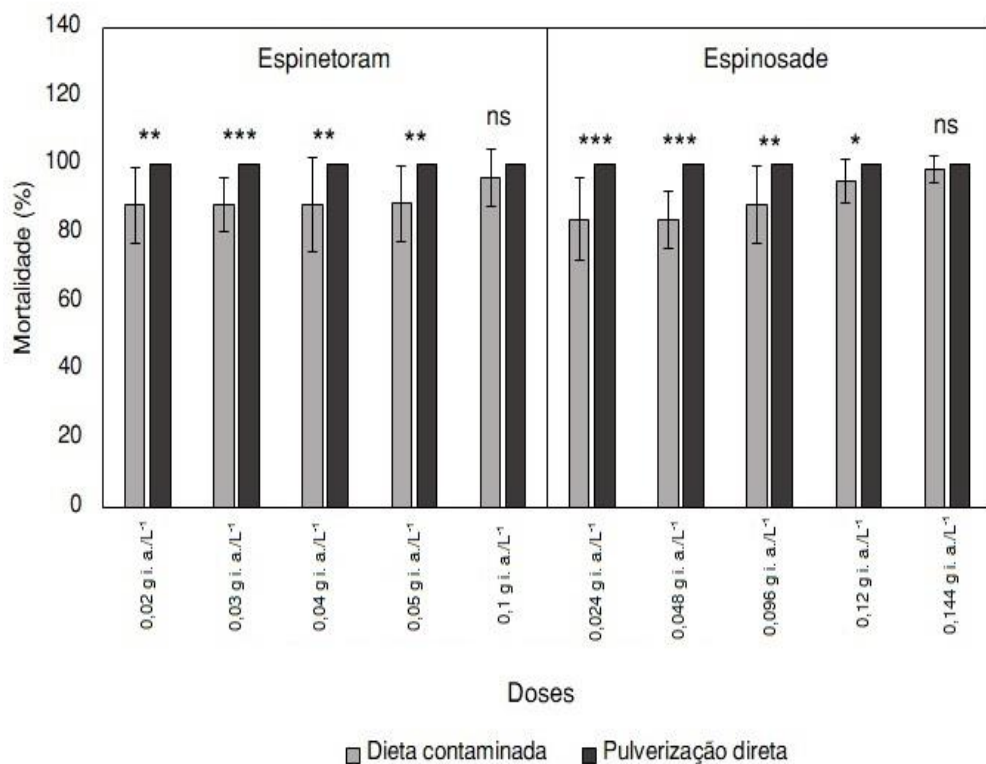


Figura 4. Taxa de mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada e pulverização direta aos inseticidas Espinectoram e Espinosade, Pombal – PB, 2022.

* ($p \leq 0,05$); ** ($p \leq 0,01$); ns (não significativo) de acordo com o teste de Wilcoxon.

Em relação a análise de sobrevivência via pulverização direta com os inseticidas sobre *A. mellifera*, não houve uma diferença destoante nos valores do Tempo Letal Mediano (TL₅₀) para os inseticidas avaliados. Dentre os inseticidas, os maiores valores do TL₅₀ foram observados para as doses do Espinoteram e Espinosade (Grupos 2 e 3), sendo a dose 0.02 e 0.03 g i. a.L⁻¹ (grupo 2) a que apresentou o maior TL₅₀ (24,1h) após a testemunha absoluta. A dose 0.1 g i. a. L⁻¹ de Espinoteram foi a que apresentou a velocidade de mortalidade (TL₅₀ = 8,2h) mais próxima da testemunha positiva (TL₅₀ = 1.01 h) (Figura 5). Esse modo de exposição foi altamente tóxico nas primeiras horas para todos os inseticidas testados.

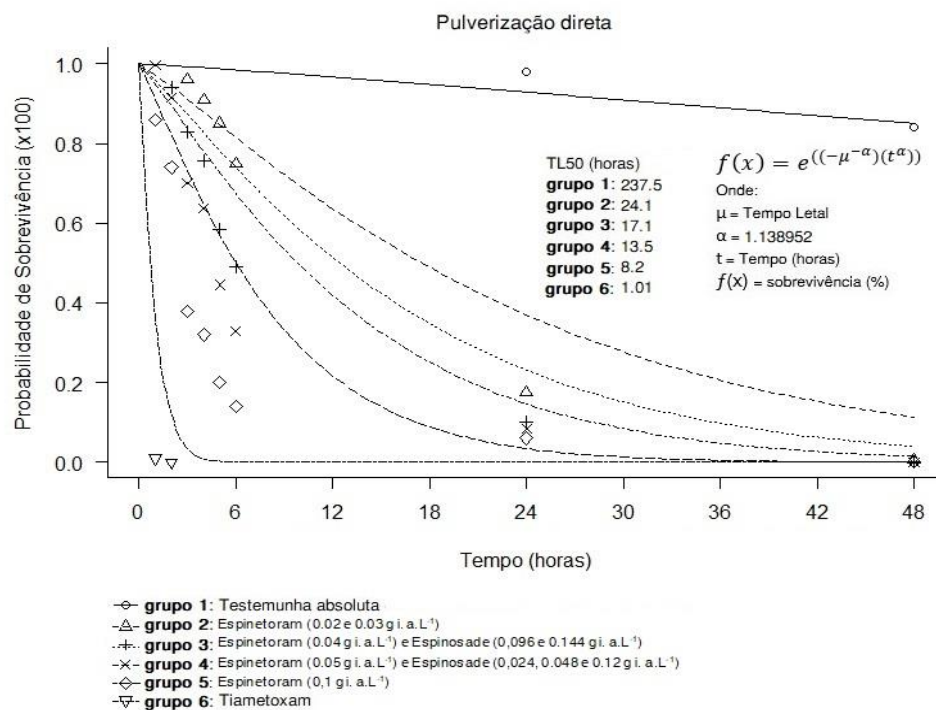


Figura 5. Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após pulverização direta com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022.

Alguns estudos comprovam o seu efeito letal sobre *A. mellifera* expostas a esses inseticidas. Este fato pode ser explicado pelo modo de ação das espinosinas, que atuam no sistema nervoso central dos insetos, especificamente nos receptores nicotínicos de acetilcolina, resultando na transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, acarretando no inseto tremores contínuos e intensa excitação. Após excitação prolongada, ocorre fadiga muscular, paralisia dos insetos e posterior morte (IRAC, 2019).

Carmo et al. (2017) avaliando a toxicidade do inseticida Espinoteram por ação de

contato para *A. mellifera*, identificaram que o inseticida foi extremamente tóxico, causando 100% de mortalidade das abelhas, sendo não seletivos para o polinizador. Lopes et al. (2018), observaram que a exposição de *A. mellifera* ao inseticida Espinosade, via oral, com dose recomendada para campo de 0,816 mg / mL para operárias, ocasionou 100% de mortalidade ao final da avaliação, considerado extremamente tóxicos.

As pesquisas citadas demonstram que, assim como foi exposto no presente estudo, o Espinetoram e Espinosade extremamente tóxico e valores baixos de TL_{50} para as abelhas, indicando que esse produto deve ser utilizado com bastante moderação em lugares próximos a colmeias, sobretudo nos primeiros horários da manhã, quando as abelhas estão forrageando ou em determinadas fases fenológicas das plantas, como a floração, para evitar o contato direto dos polinizadores com os pesticidas.

Quanto ao bioensaio referente a dieta contaminada, foi verificado que a velocidade de mortalidade proporcionada pelos inseticidas Espinetoram e Espinosade foi inferior ao da testemunha positiva. O grupo 2, constituído por quatro doses do inseticida Espinetoram (0,02, 0,03, 0,04 e 0,05 g i. a.L⁻¹) e uma do Espinosade (0,048 g i. a.L⁻¹), apresentou o maior TL_{50} (43,5 h) dentre os inseticidas avaliados. O grupo 4 (Espinosade dose 0,12 e 0,144 g i. a.L⁻¹), apresentou TL_{50} de 27,3h (Figura 6).

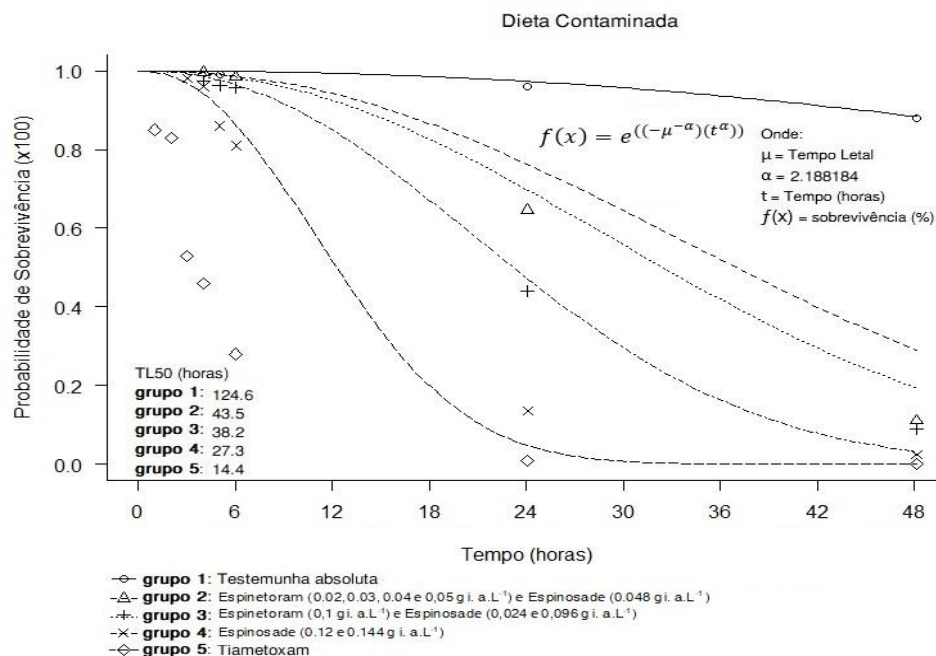


Figura 6. Sobrevivência (%) de operárias adultas de *Apis mellifera* após ingestão de dieta contaminada com diferentes inseticidas, Pombal - PB, 2022.

O efeito adverso do Espinetoram na capacidade de voo da abelha *A. mellifera*, por pulverização direta, foi notório logo a partir da 1h de exposição. Após 24h, as abelhas que sobreviveram em todas as doses avaliadas, permaneceram na base (0cm) da torre de voo, com distúrbios motores como tremores e paralisia, divergindo da testemunha absoluta. Após 48h de exposição, não houve sobreviventes nas cinco doses avaliadas (Figura 7).

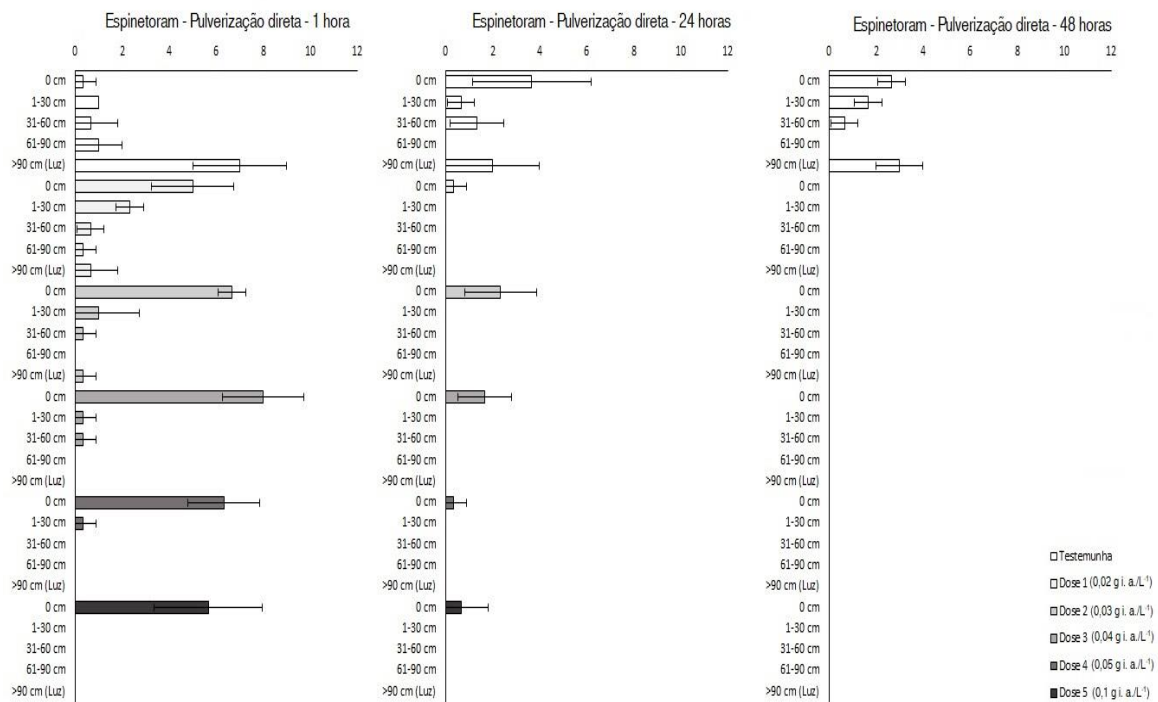


Figura 7. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por pulverização direta ao inseticida Espinetoram, 2022.

Quando expostas a dieta contaminada ao inseticida Espinetoram, após 1 hora a capacidade não foi comprometida, pois as abelhas conseguiram atingir a altura máxima (>90cm) em todas as doses avaliadas. No entanto, observou-se efeitos negativos ao passar 24h, sendo constatado que as abelhas sobreviventes, 16%, 14%, 10%, 14% e 8% expostas as doses 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.1 g i. a.L⁻¹ respectivamente, permaneceram na base (0 cm) da torre de voo somente caminhando. Após 48 horas, com poucos indivíduos sobreviventes, o inseticida independente da dose, afetou a capacidade de voo de *A. mellifera*, pois nenhuma abelha conseguiu atingir o topo da torre de voo (115 cm) (Figura 8).

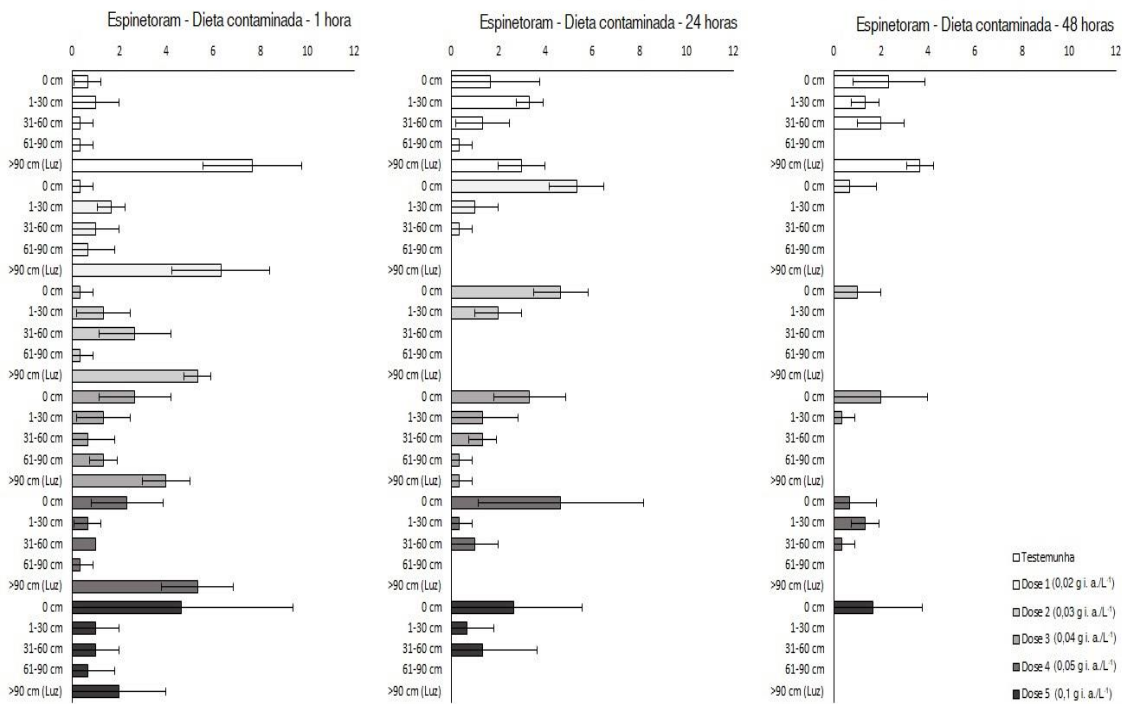


Figura 8. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Espinetoram, 2022.

Quanto ao efeito do Espinosade na capacidade de voo da abelha *A. mellifera*, por pulverização direta, a atividade motora das abelhas também foi afetada negativamente. Após 1h de exposição as abelhas em todas as doses avaliadas permaneceram em sua maioria na base (0cm). Após 24 horas foi observado que as abelhas sobreviventes foram as expostas as menores doses (0,024 g i. a.L⁻¹ e 0,048 g i. a.L⁻¹), porém permanecendo na base da torre (0cm). E após 48h, apenas abelhas da testemunha absoluta foram avaliadas, visto que, nas cinco doses do Espinosade não houve sobreviventes (Figura 9).

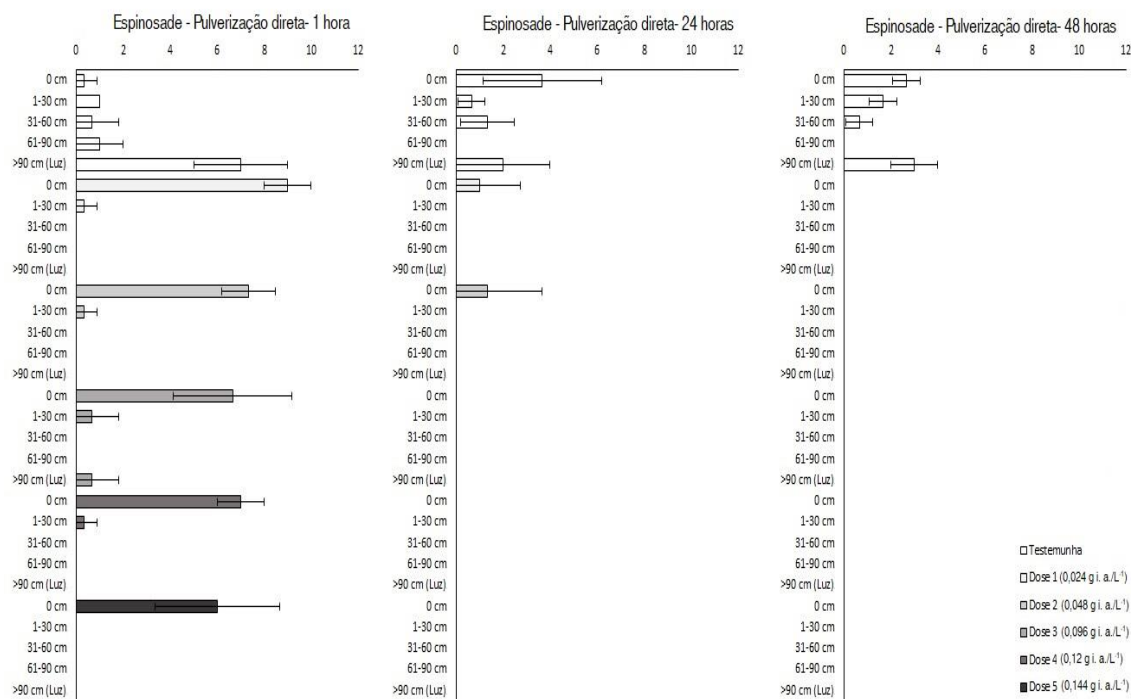


Figura 9. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após pulverização direta ao inseticida Espinosade, 2022.

Quando expostas ao Espinosade via dieta contaminada, após 1h de exposição as abelhas conseguiram atingir a altura máxima (>90 cm), independente da dose. Efeitos negativos na capacidade de voo foram observados logo após 24 horas, na qual as únicas sobreviventes após exposição a dose 0,096 g i. a. L⁻¹ permaneceram na base (0cm) da torre e as abelhas expostas as doses 0,12 g i. a.L⁻¹ e 0,144 g i. a.L⁻¹ atingiram uma altura máxima de 30 cm. Ao final das avaliações, após 48h, 3% e 1% das abelhas permaneceram na base (0 cm), após exposição as doses 0,096 g i. a.L⁻¹ e 0,12 g i. a.L⁻¹, respectivamente. Não houve sobreviventes quando expostas a maior dose (0,144 g i. a.L⁻¹) (Figura 10).

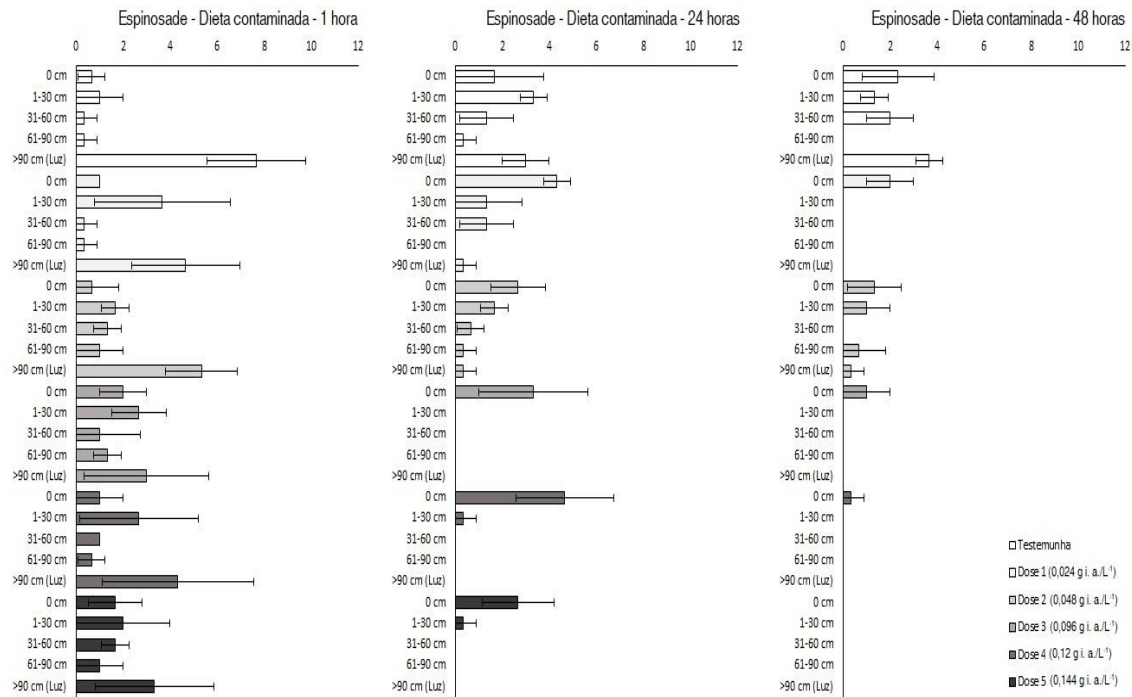


Figura 10. Capacidade de voo (cm) de *Apis mellifera* após exposição por dieta contaminada ao inseticida Espinosaede, 2022.

Os resultados mostraram que os inseticidas Espinoteram e Espinosaede, afetaram a capacidade de voo da abelha *A. mellifera* independente do modo de exposição, comprometendo a atividade essencial para sobrevivência dos insetos e para polinização. O comportamento de paralisia e tremores ocasionados por ambos os inseticidas durante a avaliação da capacidade de voo, acarretou déficits ao voo das abelhas, que impossibilitaram chegar ao topo da torre. O maior número de abelhas sobreviventes foi quando expostas a dieta contaminada. Essa alteração no comportamento e a alta taxa de mortalidade pode ser explicada devido ao modo de ação dos Espinosaede e Espinoteram, que atuam no sistema nervoso central dos insetos, ativando as proteínas receptoras de acetilcolina (nAChR), ocasionando impulsos nervosos de forma contínua e descontrolada, no qual o inseto apresenta tremores e intensa excitação. Logo após esse período de excitação, ocorre a fadiga muscular, os insetos ficam paralisados, e em seguida ocasiona a sua morte (IRAC, 2019).

É importante destacar que, estas alterações no comportamento de voo prejudicam diretamente a coleta de pólen e néctar, ou seja, irá afetar todo o desenvolvimento da colônia e, por consequência, a polinização das culturas próximas, gerando perdas econômicas

(BRITTAİN; POTTS, 2011; NAIARAGOMES et al., 2020; LIBARDONI et al., 2021). Dessa forma, a aplicação desses produtos em áreas de cultivos agrícolas não deveria ser recomendada, devido ao fato que doses mínimas e máximas avaliadas causaram expressiva mortalidade e alterações na capacidade motora que podem comprometer o desenvolvimento das colônias, além da contaminação dos produtos apícolas.

Devido à grande importância da espécie *A. mellifera* para o meio ambiente, seja na manutenção da biodiversidade, no serviço de polinização atrelado a produção de frutos e sementes, e no valor econômico gerado a partir dos produtos apícolas, se faz necessário mais pesquisas em campo e laboratoriais, avaliando a toxicidade de inseticidas do grupo das Espinosinas, explicando melhor sobre os efeitos deletérios, no intuito de elucidar o real impacto e contribuição que esses inseticidas causam no declínio populacional desses insetos.

Os resultados obtidos, são os primeiros dados de toxicidade dos inseticidas Espinetoram e Espinosade, nas doses registradas para uso no Brasil em diferentes modos de exposição, sobre *A. mellifera*, que a capacidade de voo foi analisada no período de 1h, 24h e 48h, contribuindo para uma melhor avaliação sobre a toxicidade desses produtos. Para tanto, os agricultores devem tomar precauções na pulverização desses inseticidas, que deve ser feito ao entardecer ou à noite, e evitar suas pulverizações na pré-florada e durante a florada, minimizando assim os riscos de contaminação e mortalidade, garantindo a sustentabilidade do manejo de polinizadores em áreas agrícolas.

4 CONCLUSÕES

Os inseticidas Espinetoram e Espinosade são tóxicos para *A. mellifera*, via pulverização direta e por ingestão de dieta contaminada, sendo o modo por pulverização direta a maior ameaça as populações desta espécie.

Os inseticidas Espinetoram e Espinosade interferiram negativamente na capacidade de voo da abelha *A. mellifera*, no período de 1h, 24h e 48h após início da exposição direta e oral.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRITAIN, C.; POTTS, S. G. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic and Applied Ecology*, v.12, n. 4, p.321-331, 2011.
- COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MAIA, A. V. P.; SILVA, F. E. L.; BEZERRA, C. E. S.; SILVA, J. G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. *Apidologie*, v. 45, n. 1, p. 34-44, 2014.
- CARMO, D. das G. do; MARSARO JÚNIOR, A. L.; COSTA, T. L.; FARIAS, E. de SÁ; RIBEIRO, A. V.; PICANÇO, M. C. Toxicidade de inseticidas comerciais, por ação de contato, para *Apis mellifera*. *Insetos e Entomologia*, Viçosa-MG, p. 145-148, 29 dez. 2017.
- Comitê de Ação a Resistência a Inseticidas-IRAC. Disponível em: <https://www.iracbr.org/modo-de-ao-de-inseticidas-e-acaricidas>. Acesso em: 22 de Jan de 2022.
- DEL SARTO, M. C. L.; OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N. C.; CAMPOS, L. A. O. Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 45:626–636. INRA, DIB and Springer-Verlag France, 2014.
- FREITAS, B. Abelhas como bioinsumos. A.B.E.L.H.A.S, 2022. Disponível em: <https://abelha.org.br/artigos/> Acesso em: 21 de Jan 2022.
- GARIBALDI, L. A.; CARVALHEIRO, L.G.; VAISSIÈRE, B.E.; GEMMILL-HERREN, B.; HIPÓLITO, J.; FREITAS, B.M.; NGO, H.T.; AZZU, N.; SÁEZ, A.; ÅSTRÖM, J.; NA, J. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science*, v. 351, n. 6271, p. 388-391, 2016.
- GOULSON, D.; NICHOLIS, E.; BOTIAS, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, v. 347, n. 6229, 2015.
- IRAC (Comitê de Ação a Resistência a Inseticidas). Disponível em: < <https://www.irac-br.org/modo-de-ao-de-inseticidas-e-acaricidas> >. Acesso em: 23 de Jan de 2022.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. **Portaria Normativa IBAMA N° 84, de 15 de outubro de 1996**. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/component/legislacao>. Acesso em: 22 de Jan. de 2022.
- LIBARDONI, G.; NEVES, P. M. O. J.; ABATI, R.; SAMPAIO, A. R.; COSTA-MAIA, F. M.; VISMARA, E. S.; LOZANO, E. R.; POTRICH, M. Possible interference of *Bacillus thuringiensis* in the survival and behavior of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, v. 11, p. 3482, 2021.
- NAIARA GOMES, I.; VIEIRA, K. I. C.; GONTIJO, L. M.; HELDER CANTO RESENDE, H. C. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. *Ecotoxicology*, v. 29, p. 97-107, 2020.

NASCIMENTO, W.M. et al. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Bras.**, v.30, p.494-498, 2012.

NOCELLI, R. C. F.; ROAT, T.C.; ZACARIN, E.C.M. da S.; MALASPINA, O. Riscos de Pesticidas sobre as Abelhas. In: **Semana dos Polinizadores**. Embrapa Se ed. Petrolina: [s.n.]. p. 196–212, 2012.

PANDEY, S.; GURR, G. M. Conservation biological control using Australian native plants in a brassica crop system: seeking complementary ecosystem services. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 280, n. April, p. 77–84, 2019.

PIZZAIA, W. C. S.; PEREIRA, N. C.; DINIZ, T. O.; TOLEDO, V. A. A.; RUVOLOTAKASUSUKI, M. C. C. Apis mellifera africanized queens tolerant to the neonicotinoid thiamethoxam. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 2, p. 35 - 42, 2021.

RAMIREZ, V. M.; AYALA, R.; GONZÁLEZ, H. D. Crop pollination by stingless bees. In: Vit, P.; PEDRO, S.; ROUBIK, D. (Eds). Pot-pollen in stingless bees melitology. **Springer, Cham**, pp. 139-153, 2018.

SÍLVIA, C.; PIRES, S.; PEREIRA, F. M.; TERESA, M. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.51, n.5, p.422-442, 2016.

TEIXEIRA, S. P.; MARINHO, C. R.; PAULINO, J. V. A Flor: aspectos morfofuncionais e evolutivos. IN: RECH, A. R., AGOSTINI, K., OLIVEIRA, P.E.A.M. & MACHADO, I.C.S. (ORG.). **Biologia da Polinização**. 1ed.Brasília: Editora do Ministério do Meio Ambiente, v. 1, p. 45-70, 2014.

TOLEDO, V.A.A.; TAKASUSUKI, M.C.C.R.; BAITALA, T.V.; COSTA-MAIA, F.M.; PEREIRA, H.L.; HALAK, A.L.; CHAMBÓ, E.D.; MALERBO-SOUZA, D.T. Polinização por abelhas (*Apis mellifera* L.) em laranjeira (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Sci. Agraria Paranaensis**, v.12, p.236-246, 2013.

ZHU, Y. C. ADAMCZYK, J.; RINDERER, T.; YAO, J.; DANKA, R.; LUTTRELL, R.; GORE, J. Spray Toxicity and Risk Potential of 42 Commonly Used Formulations of Row Crop Pesticides to Adult HoneyBees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 6, p. 2640–2647, 2015.