

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

RAQUEL CHAVES MACEDO

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA ABELHA

Scaptotrigona postica LATREILLE, 1804

UBERLÂNDIA
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M141t
2016

Macedo, Raquel Chaves, 1990
Toxicidade do acetamiprido e dimetoato para abelha *Scaptotrigona postica latreille*, 1804 / Raquel Chaves Macedo. - 2016.
59 f. : il.

Orientador: Stephan Malfitano Carvalho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.
Inclui bibliografia.

1. Qualidade Ambiental - Teses. 2. Polinizadores - Teses. 3. Avaliação de riscos - Teses. 4. Abelhas sem ferrão - Teses. I. Carvalho, Stephan Malfitano. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. III. Título.

CDU: 574

RAQUEL CHAVES MACEDO

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA ABELHA

Scaptotrigona postica LATREILLE, 1804

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Stephan Malfitano Carvalho

UBERLÂNDIA

2016

RAQUEL CHAVES MACEDO

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA ABELHA
Scaptotrigona postica LATREILLE, 1804

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental para obtenção do título de Mestre

Uberlândia, 30 de agosto de 2016.

Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho – UFU

Prof. Dr. César Freire Carvalho – UFLA

Prof. Dr. Stephan Malfitano Carvalho – UFLA

A todos os pesquisadores que dedicam suas vidas e seu tempo a preservação das abelhas e entendem a importância delas para o ambiente e a humanidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Stephan Malfitano Carvalho, por todos os ensinamentos, não só no auxílio na dissertação, mas pelos conselhos e conversas que levarei para vida toda.

A UFU, por ceder o espaço físico e me receber tão bem no desafio de estar em uma nova instituição.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo que facilitou o desenvolvimento do meu projeto.

A Lorryne Jacinto Pacheco, pelas horas de conversa, espera e no companheirismo diante das dificuldades e dos acertos, você foi importante para a realização deste trabalho.

A primeira turma do Mestrado em Qualidade Ambiental, pelo companheirismo, risadas, horas de estudos e angústias, conversas no whats app e apoio sempre que necessário.

A minha mãe Dione Chaves de Macedo, por mais uma vez me dar apoio em todos os sentidos, carinho e atenção, sem você nada disso seria possível.

Aos meus familiares, Pai, irmão, primos, tias e tios por toda alegria e momentos bons que me proporcionaram, sempre me ajudando e torcendo para o meu sucesso.

Ao Gustavo Bissi Pimentel, amigo e namorado, por toda a paciência, força de vontade em me ajudar, nos momentos bons e ruins, por me fazer enxergar o melhor em mim e estar comigo sempre, fazendo com que eu me sentisse mais segura para continuar meu trabalho.

A todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho e me ajudaram a ter sucesso nessa etapa.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO GERAL | i |
| GENERAL ABSTRACT..... | ii |
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| A ABELHA <i>Scaptotrigona postica</i> Latreille, 1804 E O AGROECOSSISTEMA | 1 |
| RESUMO..... | 2 |
| ABSTRACT | 3 |
| INTRODUÇÃO..... | 4 |
| REFERENCIAL TEÓRICO..... | 7 |
| Importância das abelhas..... | 7 |
| Diversidade de Apoidea no Brasil | 10 |
| A abelha <i>Scaptotrigona postica</i> Latreille, 1804 | 11 |
| Declínio de abelhas no Brasil e mundo | 12 |
| Produtos fitossanitários e as abelhas | 14 |
| Acetamiprido (neonicotinoide)..... | 15 |
| Dimetoato (organofosforado) | 17 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 19 |
| REFERÊNCIAS | 20 |
| CAPÍTULO 2 | 27 |
| TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA <i>Scaptotrigona postica</i> Latreille, 1804 (HYMENOPTERA: APIDAE)..... | 27 |
| RESUMO..... | 28 |
| ABSTRACT | 29 |
| INTRODUÇÃO..... | 30 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 33 |
| Manutenção dos ninhos e coleta..... | 33 |

| | |
|----------------------------------|----|
| Ensaios de toxicidade aguda..... | 33 |
| Ensaios de sobrevivência..... | 35 |
| Análise dos dados | 35 |
| RESULTADOS | 36 |
| Ensaios de toxicidade aguda..... | 36 |
| Acetamiprido | 36 |
| Dimetoato | 39 |
| Ensaios de sobrevivência..... | 38 |
| Acetamiprido | 38 |
| Dimetoato | 39 |
| DISCUSSÃO | 42 |
| CONCLUSÕES | 45 |
| REFERÊNCIAS | 46 |

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA A ABELHA *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804¹

RESUMO GERAL

A polinização realizada por insetos é vital para os ecossistemas terrestres e para a produção de culturas. Existem lacunas de conhecimento no que diz respeito à extensão e as causas relacionadas ao declínio dos polinizadores, dentre eles podemos citar: desmatamento, ação de patógenos e parasitoides e a utilização inadequada de produtos fitossanitários (inseticidas, fungicidas, herbicidas, entre outros). A realização de estudos que avaliem a toxicidade dos produtos fitossanitários (possíveis agentes contribuintes do declínio das populações de abelhas) devem ser realizados com uma ampla diversidade de espécies pertencentes à Superfamília Apoidea, como por exemplo, as abelhas nativas sem ferrão. A espécie *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804 se destaca por ser um meliponíneo que vive em ocos de árvores e é encontrada em todas as áreas de clima tropical a subtropical. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda (DL50) dos inseticidas acetamiprido e dimetoato para a abelha nativa sem ferrão *S. postica*. Em uma segunda etapa, com base nos dados de DL50 e informações sobre os níveis de resíduos encontrados dessas moléculas em recursos florais e outros exsudados vegetais, foram estabelecidas doses subletais para intoxicação das abelhas e verificação da expectativa de vida em condições laboratoriais. A coleta dos indivíduos ocorreu em ninhos naturais mantidos no campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, sendo as abelhas transportadas até o laboratório para realização dos estudos. Para o acetamiprido, os dados de DL50 obtidos foram de 173,04, 105,63 e 58,71 µg i.a./abelha (equivalente a 0,0118, 0,0072 e 0,0040 µg i.a./mg de massa corpórea), respectivamente para 24, 48 e 72 horas. No caso do dimetoato em 24, 48 e 72 horas, as DL50 foram respectivamente de 9,71, 2,50 e 0,59 µg i.a./abelha (equivalente a 0,00066, 0,00017 e 0,00004 µg i.a./mg de massa corpórea). Os resultados obtidos para o teste de sobrevivência mostraram que doses subletais equivalentes a $1/100$ e $1/1000$ daquela da DL50 não afetaram a sobrevivência das abelhas, sendo idênticas ao tratamento controle. Nesses casos, os tempos letais 50 (TL50) para as doses mencionadas juntamente com o tratamento controle foram de 104,03 e 124,21 horas, para acetamiprido e dimetoato respectivamente. No caso do organofosforado, os tratamentos com a dose de $1/10$ daquela da DL50 e a própria DL50, formaram um mesmo grupo com TL50 de 80,08 horas. Para o neonicotinoide, a dose de $1/10$ daquela da DL50 apresentou TL50 intermediária (63,76 horas) e a menor expectativa de vida foi observada para o tratamento com a DL50, ou seja, 27,29 horas. Os resultados obtidos sugerem que doses subletais ($1/100$ e $1/1000$ da DL50) possivelmente podem ser consideradas seguras a *S. postica* quando avaliado somente a sobrevivência das abelhas.

Palavras-chave: polinizadores, abelhas nativas, acetamiprido, dimetoato, estudo toxicológico.

¹ Raquel Chaves Macedo – Instituto de Ciências Agrárias – Universidade Federal de Uberlândia - MG

² Orientador: Prof. Stephan Malfitano Carvalho – Departamento de Entomologia – Universidade Federal de Lavras - MG

TOXICITY TO ACETAMIPRID AND DIMETHOATE TO BEE *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804

GENERAL ABSTRACT

The pollination by insects is vital for terrestrial ecosystems and crop production. There are knowledge gaps regarding the extent and causes related to decline of pollinators, including deforestation, action pathogens and parasitoids and improper use of plant protection products (insecticides, fungicides, herbicides, etc.). Studies to evaluate the toxicity of pesticides (possible contributing agents of the decline of bee populations) should be performed with a wide diversity of species belong to the superfamily Apoidea, such as the native stingless bees. The species *Scaptotrigona Postica* Latreille, 1804 stands out for being a meliponineo who lives in hollow trees and founding in all tropical areas to subtropical. The objective of this study was to evaluate the acute toxicity (LD50) of acetamiprid and dimethoate insecticides to the native stingless bee *S. Postica*. In a second stage, based on data LD50 and information on the residue levels found these molecules in floral resources and other plant exudates, sublethal doses established to poison of the bees and verification of lifespan under laboratory conditions. The collection of individuals occurred in natural nests maintained in Umuarama campus of the Federal University of Uberlândia, and the bees transported to the laboratory for carrying out the studies. For Acetamiprid, LD50 data obtained were 173.04, 105.63 and 58.71 $\mu\text{g a.i / bee}$ (equivalent to 0.0118, 0.0072 and 0.0040 $\mu\text{g a.i / mg body weight}$), respectively for 24, 48 and 72 hours. In the case of dimethoate 24, 48 and 72 hours, the LD50 were respectively 9.71, 2.50 and 0.59 $\mu\text{g a.i / bee}$ (equivalent to 0.00066, 0.00017 and 0.00004 $\mu\text{g a.i / mg of body mass}$). The results obtained for the survival test showed that sublethal doses equivalent to a $^{1/100}$ and $^{1/1000}$ that of DL50 did not affect the survival of bees, being identical to the control. In such cases, lethal times 50 (TL50) to the doses mentioned along with the control treatment were 104.03 and 124.21 hours for acetamiprid and dimethoate, respectively. In the case of the organophosphate treatments with a dose of $^{1/10}$ of that of LD50 and LD50, it formed with a group of LT50 80.08 hours. For the neonicotinoid, the dose of $^{1/10}$ LD50 showed that LT50 intermediate (63.76 hours) and lower life expectancy observed for treatment with the LD50 is 27.29 hours. The results suggest that sublethal doses ($^{1/100}$ and $^{1/1000}$ LD50) may possibly be considered safe *S. Postica* when only evaluated the survival of bees.

Key-words: pollinators, stingless bee, acetamiprid, dimethoate, toxicological study.

CAPÍTULO 1

A ABELHA *Scaptotrigona postica* LATREILLE, 1804 E O AGROECOSISTEMA

A ABELHA *Scaptotrigona postica* LATREILLE, 1804 E O AGROECOSSISTEMA

RESUMO

A polinização realizada por insetos é vital para os ecossistemas terrestres e para a produção de alimentos. Abelhas são consideradas modelos indicadores da qualidade ambiental por viverem em íntimo contato com a natureza, coletando pólen, néctar, água e resina para a manutenção da colônia. No mundo, verifica-se uma diminuição de colônias de abelha, aumentando a preocupação em relação à proteção e manutenção desses insetos e consequentemente da biodiversidade. Existem vários aspectos que podem influenciar na vida das abelhas, dentre eles podemos citar: desmatamento, ação de patógenos, predadores e parasitoides e a utilização inadequada de produtos fitossanitários (inseticidas, fungicidas, herbicidas, entre outros). As abelhas, em especial aquelas da tribo Meliponini (Hymenoptera: Apidae), são conhecidas como abelhas sem ferrão em decorrência de apresentarem esta estrutura de defesa atrofiada. Entretanto, são responsáveis pela polinização da maioria das espécies vegetais nativas do Brasil e inúmeras espécies cultivadas. Muito questionado sobre a segurança aos polinizadores, os neonicotinoides pertencem a uma classe de inseticidas neurotóxicos e são importantes para a agricultura devido à sua atividade, em especial, contra insetos sugadores. Como exemplo, o acetamiprido é utilizado na aplicação foliar em culturas de algodão, batata, feijão, maçã, mamão, melancia, melão, pinhão-manso, soja, tomate e trigo. Por outro lado, os inseticidas do grupo organofosforado, desenvolvidos há décadas e atuantes como inibidores da acetilcolinesterase, continuam sendo utilizados devido principalmente ao seu baixo custo. Dentro deste grupo, pode-se destacar o dimetoato, desenvolvido na que ainda é registrado para controle de pragas em culturas como algodão, citros, maça, rosa, tomate e trigo. Para ambas as moléculas citadas, observa-se que o uso em culturas visitadas por abelhas aumenta consideravelmente o risco de intoxicação, podendo contribuir direta e/ou indiretamente com o declínio das populações de abelhas.

Palavras-chave: declínio, polinizadores, abelhas nativas, produtos fitossanitários.

THE BEE *Scaptotrigona Postica* LATREILLE, 1804 AND AGROECOSYSTEM

ABSTRACT

The pollination by insects is vital for terrestrial ecosystems and food production. The bees considered models indicators of environmental quality by living in close contact with nature, collecting pollen, nectar, water and resin to maintain the colony. In the world, there is a decrease of bee colonies, increasing concern about the protection and maintenance of these insects and consequently biodiversity. There are several aspects that can influence the life of bees, among them include deforestation, action pathogens, predators and parasitoids and improper use of plant protection products (insecticides, fungicides, herbicides, etc.). The bees, especially those of Meliponini tribe (Hymenoptera: Apidae), are known as stingless bees due to submit this atrophied defence structure. However, they are responsible for the pollination of most native plant species in Brazil and numerous cultivated species. Very asked security to pollinators, neonicotinoids belong to a class of neurotoxic insecticides and are important for agriculture because of their activity, in particular, against sucking insects. As an example, acetamiprid using in foliar application in cotton, potatoes, beans, apple, papaya, watermelon, cantaloupe, jatropha, soybean, tomato and wheat. On the other hand, the organophosphorus insecticides group developed for decades and acting as acetylcholinesterase inhibitors still using mainly due to their low cost. Within this group, we can highlight dimethoate, still registered for pest control in crops such as cotton, citrus, apple, pink, tomato and wheat. For both cited molecules, it observed that the use on crops visited by bees greatly increases the risk of intoxication and can contribute directly and / or indirectly with the decline of bee populations.

Key-words: decline, pollinators, stingless bee, pesticides.

INTRODUÇÃO

A diversidade biológica rapidamente está se perdendo e os insetos destacam-se como espécies-chave para conservação além de serem grupos indicadores de padrões de riqueza de espécies (KREMEN et al., 1992). A polinização realizada por insetos é vital para os ecossistemas terrestres e para a produção de culturas. A maioria das espécies cultivadas são beneficiadas pela presença dos insetos polinizadores, que fornecem um serviço global estimado em bilhões de dólares e que vai além de uma simples questão de segurança alimentar. Assim, a chance de que um "colapso", em que o rendimento das culturas começa a cair por causa da polinização inadequada, tem gerado debate compreensível e preocupação, estimulando muitos pesquisadores nas últimas décadas (GOULSON et al., 2015). No entanto, existem lacunas de conhecimento no que diz respeito tanto à extensão e as causas relacionadas ao declínio dos polinizadores. Na verdade, para a maioria das regiões do globo e para a maioria dos polinizadores selvagens, não existe a ocorrência de dados suficientes para saber se há realmente a ocorrência desses declínios (GOULSON et al., 2015).

Abelhas são consideradas importantes modelos de indicador da qualidade ambiental por viverem em íntimo contato com a natureza, coletando pólen, néctar, água e resina para a manutenção da colônia (CHAMBÓ et al., 2010). Esses organismos respondem as contaminações químicas ambientais principalmente onde ocorrem partículas em suspensão, fornecendo dados sobre alterações ambientais tanto urbanas quanto rurais (GOULSON et al., 2015).

Além de ser considerado um serviço do ecossistema, agricultores utilizam a polinização como uma prática em todo o mundo para garantir o sucesso da produção agrícola. As abelhas desempenham um papel essencial e extremamente importante na geração de alimento para a população mundial. Estudos realizados constataram que 70% das culturas utilizadas para consumo humano dependem de polinizadores, sendo que a sustentabilidade econômica de determinadas culturas depende anualmente de três milhões de colônias de abelhas, com um valor estimado de 153 bilhões de Euros (GALLAI et al., 2009).

Abelhas que desempenham grande parte do processo de polinização precisam de uma atenção especial. Esforços com o intuito de proteger essas espécies são exigências econômicas e ecológicas. Além da produção agrícola também pode-se citar a cadeia apícola que no Brasil envolve cerca de um milhão de pessoas como a principal fonte de

renda familiar (CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE APICULTURA - CBA, 2016). Atualmente está ocorrendo à diminuição de colônias de abelha ao longo de todo o mundo, aumentando a preocupação em relação à proteção e manutenção desses insetos. Existem vários aspectos que podem influenciar na vida das abelhas, dentre eles podemos citar: desmatamento, ação de patógenos e parasitoides e a utilização inadequada de produtos fitossanitários (inseticidas, fungicidas, herbicidas, entre outros) (GOULSON et al., 2015).

Na última década, verificou-se o desaparecimento de inúmeras colônias em um fenômeno conhecido nos Estados Unidos da América por “Colony Collapse Disorder” (CCD, Síndrome do Colapso das Colônias). A CCD vem causando uma redução no número de colônias de *Apis mellifera* Linneaus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) despertando na comunidade científica a necessidade de investir em pesquisas para detectar as causas desse problema (VAN ENGELSDORP et al., 2007). A CCD foi um fenômeno isolado, ocorrendo com uma única espécie (*A. mellifera*) e documentado primeiramente nos Estados Unidos da América, porém, sua importância foi alertar sobre um possível declínio das comunidades de abelhas em todas as regiões do mundo, o que fomentou diversas discussões em relação às possíveis causas e a adoção de medidas mitigatórias para reduzir essas perdas.

O que se sabe é que as colônias de abelhas podem morrer de muitas maneiras, e CCD é apenas uma delas. Espécies de abelhas são geneticamente diversificadas, as condições de habitat e as atividades antropogênicas são imensamente variadas, as causas das perdas de colônias podem ser bem distintas em diferentes regiões. Nesse aspecto são necessários estudos que tenham a intenção de analisar mudanças no ambiente que afetem a vida das abelhas com o intuito de impedir esse declínio.

As abelhas estão sujeitas a inúmeras pressões do mundo moderno: a diminuição da abundância e da diversidade de flores e a exposição de abelhas a coquetéis de agroquímicos simultaneamente a novos parasitoides accidentalmente espalhados por seres humanos. As alterações climáticas são susceptíveis de agravar estes problemas no futuro. Fatores que podem provocar stress aos organismos não agem de forma isolada; por exemplo, a exposição a produtos fitossanitários pode afetar ambos os mecanismos de desintoxicação e respostas imunes, tornando abelhas mais susceptíveis a parasitoides (GOULSON et al., 2015). Parece certo que a exposição crônica a múltiplas pressões interagindo está dirigindo perdas de colônias de abelhas e quedas de polinizadores

selvagens, mas tais interações não são abordadas por procedimentos regulamentares em vigor, e estudar essas interações experimentalmente representa um grande desafio.

Alguns estudos apontam como causa principal do declínio das populações de abelhas à devastação de certos habitats e simplificação de paisagem, e, estão diretamente relacionados com à atividade humana. Essas causas incluem fatores como captura e manejo inadequado, infecção por vírus e ácaros, poluição, contaminação com produtos fitossanitários aplicados na agricultura e os desequilíbrios ecológicos decorrente do uso dos recursos naturais.

As abelhas, em especial da tribo Meliponini (Hymenoptera: Apidae), são conhecidas como abelhas sem ferrão em decorrência de apresentarem ferrão atrofiado. Essas são as principais responsáveis pela polinização da maioria das espécies vegetais do Brasil, constituindo um dos grupos de polinizadores de plantas floríferas nativas e permitindo a continuação do equilíbrio ecológico na manutenção de plantas nativas. Esse grupo tem sido criado, principalmente, na produção de mel, cera, pólen e própolis. Essas abelhas estão distribuídas pelas regiões tropicais do mundo, bem como nas regiões subtropicais do hemisfério sul, sendo importantes do ponto de vista econômico e ambiental (NOGUEIRA-NETO, 1997; JAFFÉ et al., 2015).

A utilização de estudos de toxicidade de produtos fitossanitários como possíveis agentes contribuintes do declínio das populações de abelhas deve ser realizado com uma diversidade de espécies da Superfamília Apoidea. Abelhas nativas sem ferrão tem seu papel essencial no ambiente, realizando ao longo de milhares de anos uma especificidade com espécies vegetais endêmicas que necessitam dessa relação para sobrevivência e manutenção no ambiente que não se desenvolve com espécies exóticas. Diante de todos os relatos de ocorrências do desaparecimento das abelhas em vários países é fácil prever os prejuízos para a apicultura/meliponicultura mundial e para o agronegócio, caso não sejam tomadas medidas para mitigar esse fato.

Estudos que tenham como objetivo subsidiar os programas de avaliação de risco e da elaboração de medidas que visam a redução desse declínio devem considerar as diversas variáveis apontadas como causadoras, em especial o risco (toxicidade) dos produtos fitossanitários para as abelhas. Nesse sentido é primordial a realização de estudos toxicológicos clássicos e que avaliem os possíveis efeitos subletais sobre abelhas nativas, como é o caso da *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Apidae).

Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade de dois produtos fitossanitários, acetamiprido e dimetoato, para abelha nativa sem ferrão *S. postica*. Em uma segunda etapa, com base nos dados de DL50 dos produtos fitossanitários e informações sobre níveis de resíduos encontrados dessas moléculas em recursos florais e outros exsudados vegetais, foram estabelecidas doses subletais para intoxicação das abelhas e verificação da expectativa de vida em condições laboratoriais.

REFERENCIAL TEÓRICO

Importância das abelhas

Responsáveis pela polinização de dois terços das espécies vegetais que produzem flor e mais três quartos das plantas cultivadas no mundo, os insetos (e alguns outros animais) são essenciais para a manutenção do equilíbrio ecológico (RUGGIERO; HEALY, 2002). De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura estima-se que, das cerca de 100 espécies de culturas que fornecem 90% dos alimentos em todo o mundo, 71 delas são polinizadas por abelhas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION- FAO, 2015). As abelhas constituem o principal grupo de polinizadores de plantas floríferas (Angiospermas) em diversos ecossistemas e contribuem na manutenção do equilíbrio ecológico e perpetuação de um grande número de espécies de plantas, garantindo a disponibilidade de alimentos em vários níveis da cadeia alimentar (“segurança alimentar”).

O transporte de grãos de pólen de uma flor para outra flor ou entre estruturas reprodutivas de uma mesma flor, na mesma planta ou em plantas diferentes, é denominado polinização (WOLFF et al., 2008). Entre os agentes polinizadores, destaca-se o papel das abelhas, devido ao elevado grau de dependência entre esses indivíduos e as angiospermas, fortalecido por milhares de anos ao longo da evolução (RECH et al., 2014). O principal alimento da maioria das espécies de abelhas são recursos florais (néctar e pólen). As fêmeas adultas coletam esses materiais manipulando as flores e acondicionando esses compostos em estruturas de transporte até a colmeia. A importância desse processo está diretamente ligada à segurança alimentar, qualidade e quantidade de produção agrícola (RECH et al., 2014). Os benefícios globais da polinização são estimados em cerca de 153 bilhões de euros (GALLAI et al., 2009).

Além da importância ecológica desempenhada pelas abelhas no ecossistema, agricultores utilizam a polinização como uma prática em todo o mundo na produção agrícola. As abelhas desempenham um papel essencial e extremamente importante na geração de alimento para a população mundial. Em um esforço para aumentar o rendimento das culturas, abelha *A. mellifera*, abelha *Bombus terrestres* Linneaus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) e algumas outras espécies são compradas ou alugadas pelos agricultores em muitos países (MCGREGOR, 1976; ROBINSON; NOWOGRODZKI; MORSE, 1989; DAG; ZIPORO; PLESER, 2006).

A reprodução sexual das plantas envolve a formação (por meiose) e fusão de gametas (fertilização). As plantas que se reproduzem por reprodução sexual podem ser classificadas em autógamas e alógamas. As plantas autógamas são aquelas que realizam preferencialmente autofecundação. A autofecundação ocorre quando o pólen (gameta masculino) fertiliza um óvulo (gameta feminino) da mesma planta. Apesar de preferencialmente realizarem autofecundação, pode ocorrer uma baixa taxa de fecundação cruzada nas espécies autógamas. Esta frequência depende da população de insetos polinizadores, intensidade do vento, temperatura e umidade (BESPALHOK; GUERRA; OLIVEIRA, 2016).

Plantas alógamas são aquelas que realizam preferencialmente polinização cruzada. Neste caso, a fertilização ocorre quando o pólen de uma planta fertiliza o óvulo da flor de outra planta. As plantas alógamas desenvolveram mecanismos que podem determinar ou incentivar a alogamia (reprodução cruzada). Plantas com esse tipo de reprodução sexual são consideradas dependentes dos polinizadores e participam de um processo mais complexo que pode ter vários mecanismos e características específicas (BESPALHOK; GUERRA; OLIVEIRA, 2016).

Em alguns casos, a polinização agrícola é naturalmente reconhecida como um fator de produção em cultivos altamente dependentes desses serviços, como melão, maçã e maracujá. Esse fato tem sido considerado relevante em culturas geralmente tidas como pouco dependentes, mas de grande importância econômica e social, a exemplo da soja e do feijão (CASTRO, 2015). Isso tem ocorrido porque quedas em produtividade ou mesmo produtividades abaixo do potencial produtivo das culturas, que incorrem em prejuízos econômicos ou menor lucratividade, vem sendo associados à perda de polinizadores em áreas agrícolas. Tal fato chama atenção para a necessidade de se compreender como variações na dinâmica da população de polinizadores se traduzem em benefícios sociais e monetários e para conhecer como os serviços de polinização

contribuem para o setor agrícola e a sociedade em geral (GIANNINI; BOFF; CORDEIRO, 2015; GIANNINI et al., 2015).

Um exemplo da importância da polinização realizada pelas abelhas para a segurança alimentar é no caso da soja (*Glycine max* (L.) Merr.), leguminosa nativa originária da Ásia Oriental, mas atualmente cultivada em todo o mundo devido seus grãos que tem uma variedade de usos na alimentação animal e humana, aplicação industrial de óleos e de produção de biocombustíveis (UNITED STATES SOYBEAN EXPORT COUNCIL, 2008). A soja é uma das commodities mais comercializadas e que gera receitas importantes para os países exportadores. A produção atingiu 264,9 milhões de toneladas em 2010 a partir de uma área colhida de 102,5 milhões de hectares (FAO, 2015; GIANNINI et al., 2015).

No entanto, apesar da soja ser uma planta autógama e se reproduzir basicamente através da autopolinização, há evidências de que ela pode se beneficiar de polinização animal mediada por insetos, aumentando assim o rendimento via polinização. (ROBACKER et al., 1983; MILFONT et al., 2013). Algumas investigações têm mostrado maiores rendimentos na cultura da soja, quando as abelhas foram introduzidas (ERICKSON et al., 1978; ROBACKER et al., 1983; CHIARI; TOLEDO; RUVOLO-TAKASUSUKI, 2005). No entanto, a soja está listada entre as culturas que apresentam alguma dependência de polinização por insetos (KLEIN et al., 2007; GALLAI et al., 2009). Lautenbach et al. (2012) relataram que os benefícios da polinização por meio do cultivo da soja são ricos em algumas áreas do Brasil, Argentina, Índia, China e EUA.

Estudos também apontam a importância da polinização nas relações ocorrentes no ambiente urbano, mostrando que as cidades têm o potencial para serem reservatórios de polinizadores, desempenhando um papel na atração de polinizadores e, consequentemente, na manutenção da flora associada (MCKINNEY, 2008; MCINTYRE, 2000). Um estudo realizado na Universidade de São Paulo por Aleixo et al. (2014) demonstraram que a polinização das espécies vegetais encontradas na área urbana estudada (289 espécies), 68% é realizada por abelhas.

Apis mellifera é uma espécie importante de abelha que poliniza uma série de culturas agrícolas em todo o mundo (KLEIN et al., 2007; LE CONTE; NAVAJAS, 2008; RADER et al., 2009) e que muitas vezes foram atribuídas a essa espécie serviços de polinização que são realizados por outras espécies de abelhas (PARKER; BATRA; TEPENDINO, 1987; RICHARDS, 1996).

No Brasil, abelhas sem ferrão desempenham um papel extremamente importante com relação à polinização das espécies vegetais nativas. A criação de abelhas sem ferrão remonta aos antigos povos indígenas que desenvolveram as práticas básicas de manejo. Essa tradição advém do grande número de espécies que habitam o território brasileiro, estimado em mais de 300 espécies (CASTRO, 2015).

Tamanha variedade, que se traduz em diferentes tamanhos corporais, colorações, preferências florais e comportamentos, faz com que as abelhas sem ferrão (também conhecidas como meliponíneos) sejam excepcionais polinizadores de áreas com grande biodiversidade e podem ser usados em programas de restauração ambiental para o resgate da flora original. As abelhas sem ferrão são importantes ecológica, social e economicamente, pois são essenciais não só em ecossistemas naturais, mas também na agricultura, seja em campo aberto ou em estufas. Elas são agentes importantes na polinização de inúmeras culturas agrícolas: café, tomate, urucum, abacate, manga, coco, morango, pepino, pimentão, carambola, contribuindo anualmente com milhares de dólares na economia da região tropical (CASTRO, 2015). Além disso, verifica-se um crescente interesse econômico sobre os diversos tipos de mel que as abelhas sem ferrão produzem. Esses méis são cada vez mais requisitados nos mercados de especiarias e nos meios gastronômicos.

Apesar de ser de conhecimento geral a importância dos polinizadores para a manutenção do equilíbrio do ecossistema ainda há muito a se fazer em relação a pesquisas na área e informações corretas transmitidas a população, para que esse assunto tenha sua devida importância e permita ações concretas para contribuir na preservação desses organismos.

Diversidade de Apoidea no Brasil

As abelhas são insetos pertencentes à ordem Hymenoptera que também inclui vespas e formigas. Estima-se que há cerca de 25.000 espécies de abelhas, divididas em 11 famílias, várias subfamílias, tribos e gêneros, e ainda mais espécies e subespécies. A maioria delas são organismos que vivem solitários, sem organização social. As abelhas do “mel” pertencem à família Apidae, que inclui outras abelhas sociais, tais como os *Bombus* (Bombinae) e as abelhas sem ferrão (Meliponinae) (DEVILLERS; PHAM-DELÈGUE, 2002). As espécies de abelhas possuem tamanho, forma, coloração, hábitos

de nidificação e modo de vida muito variado (RECH, 2014). O principal representante da família Apidae é *A. mellifera*, generalista e com vasta distribuição geográfica.

Um estudo recente realizado no Brasil realizou o maior levantamento da diversidade de abelhas até hoje no país, onde foram coletados 16 mil exemplares de 214 espécies, a fim de mapear o papel desses insetos na polinização da vegetação natural e das plantações. Além de descobrir nove espécies até agora desconhecidas no país, estudos comprovaram que a presença das abelhas aumenta consideravelmente a produtividade das culturas agrícolas (WITTER et al., 2014). Os pesquisadores também concluíram que para a polinização, a diversidade de espécies é mais importante que a quantidade de abelhas, garantido culturas mais produtivas.

Os meliponíneos (abelhas nativas sem ferrão) podem ser encontradas em regiões tropicais e temperadas subtropicais. Essas abelhas são conhecidas por possuírem ferrão atrofiado, utilizando a trilha de cheiro exalada pela glândula mandibular como principal estratégia de defesa (MICHENER, 1974). As abelhas sem ferrão são divididas em duas tribos denominadas Meliponini e Trigonini. A diferença entre as duas tribos se dá principalmente em relação às células de rainha, desenvolvendo células de mesmo tamanho (Meliponini) ou células maiores que as outras para o desenvolvimento das rainhas (Trigonini) (NOGUEIRA-NETO, 1997). Dependendo do ecossistema encontrado em território brasileiro, meliponíneos são considerados responsáveis por 40-90% da polinização de árvores nativas (MORAES; BATISTA; VIANA, 2000). Com relação a áreas cultivadas esses valores podem chegar a 30% da produção mundial de alimentos (KREMEN, 2004).

A abelha *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804

A abelha *S. postica* Latreille, 1804 se destaca por ser um meliponíneo que vive em ocos de árvores e é encontrada em todas as áreas de clima tropical a subtropical, ou seja ampla ocorrência no Brasil, mas com um destaque para os estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná (NOGUEIRA-NETO, 1997). Conhecida como “mandaguari” ou “canudo” tem uma característica marcante que facilita sua identificação: as trilhas de odor que exalam e se assemelham ao queijo gorgonzola (DAMASCENO, 1998). Desempenha um papel essencial no ambiente em que vive, polinizando várias espécies nativas como sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*

Vogel) e o baru (*Dipteryx alata* Vogel), plantas típicas do bioma cerrado (DAMASCENO, 1998). Seu papel de polinizador bastante eficiente também está atrelado a quantidade de indivíduos por colmeia, que pode alcançar mais de 20.000 abelhas, contribuindo para a produção de pólen. A entrada do ninho pode variar muito de um enxame para o outro, mas basicamente é um tubo que tem uma abertura lembrando uma corneta no final de sua extensão (NOGUEIRA-NETO, 1997). Existem poucas informações sobre características, fisiologia e comportamento dessa espécie de abelhas nativa na literatura.

Declínio de abelhas no Brasil e mundo

Polinizadores representam um serviço chave para o ecossistema que é vital para a manutenção de comunidades de plantas selvagens e de produtividade agrícola. Há uma clara evidência de declínios recentes nas populações de polinizadores selvagens e domesticados, sendo que ambas podem ser afetadas por uma série de alterações ambientais, incluindo a perda de recursos florais e de nidificação (POTTS, 2010).

O fenômeno conhecido como CCD (Colony Collapse Disorder) ou Desordem do Colapso das Colônias foi observado na América do Norte no Inverno do ano de 2006 em colmeias de *Apis mellifera* Linneaus, 1758. Essa síndrome foi caracterizada por um conjunto específico de sintomas: perda exagerada de abelhas operárias adultas nas colônias afetadas, colônias fracas ou mortas com populações de larvas em excesso com relação a populações de abelhas adultas; a falta de evidências de abelhas mortas dentro ou nos arredores das colmeias afetadas, entre outras (VAN ENGELSDORP et al., 2007). O fenômeno chamou atenção e preocupou apicultores e comunidade científica com relação a saúde das abelhas. As causas para a ocorrência do CCD na América do Norte não têm uma explicação científica concreta. Inúmeras causas têm sido propostas, muitas vezes com pouco ou nenhum dado de apoio (OLDROYD, 2007). Os Estados Unidos e outros países europeus estão investindo milhões de dólares para pesquisar as possíveis razões do declínio no número de abelhas e desenvolver estratégias de mitigação (PETTIS; DELAPLANE, 2010).

Na Europa, Dainat, Van Engelsdorp e Neumann (2012), relataram uma possível ocorrência de um fenômeno semelhante ao CCD ocorrido fora dos EUA. Em outubro de 2009 foram relatados por apicultores a perda de diversas colônias de *Apis mellifera* Linneaus, 1758. Os pesquisadores testaram os insetos afetados para ter certeza que as

mortes não ocorreram devido ao ataque de algum patógeno ou parasitoide comum para esses insetos. O trabalho concluiu a primeira evidência de estudo de caso de ocorrência do CCD fora dos EUA, porém existe a necessidade de uma normatização e definição mais concreta desse fenômeno para diagnosticar o CCD e comparar dados em uma escala global (DANAIT; VAN ENGELSDORP; NEUMANN, 2012).

Além dos relatos encontrados nos Estados Unidos e na Europa, Paudel et al. (2015) conseguiram tabular uma série de dados demonstrando perdas de polinizadores em diversos países, como Dinamarca, Grécia, Áustria, Bélgica e Canadá. Contudo, no Brasil, ainda carecem de informações sobre o declínio de polinizadores. As abelhas da tribo Meliponini (Hymenoptera: Apidae) estão entre os principais polinizadores da maioria das espécies vegetais do Brasil. Entretanto, existe preocupação com o declínio dessas populações. Mesmo não existindo um fator único responsável pela redução na população das abelhas, verifica-se que a alteração de habitat, captura e manejo inadequado das colmeias, ocorrência de doenças, poluição e a contaminação com produtos fitossanitários, estão entre os principais fatores. Em situações dessa natureza, pode-se especular sobre alguns impactos decorrentes do declínio de polinizadores: deterioração e “mal” funcionamento dos ecossistemas terrestres, das cascatas tróficas, sobrevivência e manutenção da diversidade genética de diversas espécies e redução na quantidade e qualidade de alimentos. Diante de todos os relatos de ocorrência do desaparecimento das abelhas em vários países, é possível mensurar os prejuízos para a apicultura/meliponicultura mundial e para o agronegócio, caso não sejam tomadas medidas para mitigar esse fato (GOULSON et al., 2015).

Abelhas tem um importante papel como polinizadores na manutenção do ecossistema, quando ocorre o declínio desses polinizadores pode ocorrer o colapso de outros componentes ecológicos (KEARNS; INOUYE, 1997). O efeito do declínio dos polinizadores é associado com a diminuição da produção agrícola (BAUER; WING, 2010) levando à perda de componentes ecológicos e econômicos. A tendência atual da queda de abelhas em todo o mundo trouxe atenção para a segurança alimentar mundial (HOLDEN, 2006).

O aumento da industrialização e dos grandes centros urbanos pode ser apontado como um fator que influencia no declínio das espécies nativas de abelhas sem ferrão, pois esses indivíduos não possuem o mesmo comportamento generalista encontrado em *Apis mellifera* Linneaus, 1758, o que afeta sua sobrevivência em condições desfavoráveis. Estudos realizados apontam para a intoxicação de abelhas com metais

pesados, devido a altas taxas desses compostos presentes nos grandes centros. A contaminação por esses resíduos pode afetar a diversidade das espécies e fazer com que elas se tornem suscetíveis ao stress, enfraquecendo as colônias e contribuindo para o seu declínio (MORON et al., 2012).

Como resultado das mudanças climáticas, culturas estão se modificando, afetando os polinizadores que habitam diversos biomas de modo que esses se tornam mais suscetíveis a declínios populacionais e até mesmo a extinção (FORISTER et al., 2010). Fatores resultantes das mudanças das condições climáticas como migração diferencial e taxas de ocorrência desordenada entre plantas e insetos pode levar a um deslocamento espacial de processos como a polinização (SCHWEIGER et al., 2008).

Apesar de a agricultura ser apontada como uma das principais atividades relacionadas com o declínio de insetos polinizadores, em função da modificação, simplificação e perda do habitat, é preciso salientar que a pecuária também modifica a paisagem, desmatando e fragmentando grandes áreas, contribuindo diretamente para a redução no número de colônias de abelhas.

Produtos fitossanitários e as abelhas

Como qualquer outro país com uma agricultura em expansão e em especial as características particulares do Brasil, as populações de abelhas nativas e exóticas podem ser significativamente afetadas. Estudos realizados atribuem aos inseticidas neonicotionoides como altamente tóxicos para as abelhas e como uma das principais causas do desaparecimento desses insetos. Esses inseticidas neurotóxicos em doses subletais são capazes de afetar o comportamento das abelhas, como por exemplo, a capacidade olfativa e gustativa, a orientação espacial e aumento na susceptibilidade de doenças. No Brasil o uso dos produtos fitossanitários é feito indiscriminadamente em vários estados, havendo, portanto, uma alta probabilidade de aumento dos casos de intoxicação das abelhas com o consequente desaparecimento desses polinizadores (JACOB et al., 2012).

Outro fator agravante no cenário brasileiro é o aumento no consumo de produtos fitossanitários, colocando o país como destaque no faturamento desses insumos. Em comparação com anos anteriores, observou-se um aumento no consumo de ingredientes ativos na ordem de 700% entre os anos de 1964 e 1998; nesse mesmo período, a área explorada teve um acréscimo de 78%. Segundo a Associação Nacional de Defesa

Vegetal/ANDEF (2009), o Brasil ocupa o primeiro lugar mundial em faturamento desses produtos sendo gastos em 2007, 673,9 mil toneladas de produtos formulados, num total de U\$7,125 bilhões. O segundo lugar ficou com os EUA com um volume de 646 mil toneladas de produtos e vendas de U\$6 bilhões. Recente relatório do Ministério do Meio Ambiente/Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, aponta para um alarmante aumento de 294% na quantidade consumida de ingrediente ativo entre os anos de 2000 a 2012, representando um aumento de 194% no faturamento para o mesmo período. Entretanto, mesmo considerando o aumento expressivo no consumo desses insumos, é importante destacar as condições produtivas no Brasil, onde em média são realizadas duas safras por ano, quando comparado com países do hemisfério norte (CARVALHO et al., 2012).

Acetamiprido (neonicotinoide)

Os neonicotinoides são uma classe de inseticidas que incluem produtos como imidacloprido, acetamiprido e tiameksam. Esses compostos são importantes aliados para a agricultura devido à sua atividade contra insetos sugadores (YAMAMODO; CASIDA, 1999). Os neonicotinoides foram desenvolvidos na década de 1980, e o primeiro composto disponível comercialmente, imidacloprido, tem sido usado desde meados da década de 1990 (KOLLMEYER et al., 1999). Eles são agonistas dos receptores nicotínicos da acetilcolina (nAChR) presentes no sistema nervoso central dos insetos. Em estudos comparativos, verificou-se que os neonicotinoides apresentam grande afinidade aos nAChR de insetos do que de vertebrados, sendo menos tóxicos ao homem, portanto, empregados no manejo de insetos-praga (TOMIZAWA; CASIDA, 2005), tornando-se o um dos principais grupos de produtos fitossanitários comercializado no mundo (SPARKS; NAUEN; IRAC, 2015).

Neonicotinoides geralmente são tóxicos para os insetos em pequenas quantidades quando comparado com outros grupos de inseticidas. Por exemplo, a dose letal 50 (DL50) para a ingestão de imidacloprido e clotianidina para abelhas é 5 e 4 ng por insetos, respectivamente, o que para efeitos de comparação é de aproximadamente 1/10.000 da DL50 para diclorodifeniltricloroetano (SUCHAIL; GUEZ; BELZUNCES, 2000). Os neonicotinoides são medianamente solúveis em água e apresentam propriedade sistêmica, absorvidos pelas plantas através de suas raízes ou folhas e em seguida, são transportados ao longo dos tecidos da planta. Isso proporciona muitas

vantagens no controle de pragas, pois eles protegem todas as partes da planta (BYRNE; TOSCANO, 2006; CASTLE; BYRNE; TOSCANO, 2005).

Em alguns países, os neonicotinoides são predominantemente utilizados como protetor de sementes para uma ampla variedade de culturas, tais como o girassol, cereais, beterraba e batata-inglesa (principalmente imidacloprido, clotianidina e tiametoxam) (JESCHKE et al., 2011). Uma vantagem de protetores de semente é que eles não exigem nenhuma ação por parte do agricultor, protegendo todas as partes da cultura por vários meses após a semeadura e também são considerados como prestação de um melhor direcionamento de aplicações de pulverização.

Por se tratar de um composto de baixa toxicidade para os vertebrados, alta toxicidade a insetos, utilização flexível e propriedade sistêmica, fez com que os neonicotinoides se tornassem um dos grupos químico mais utilizado no mundo, sendo da ordem de 25% do total (JESCHKE et al., 2011; SPARKS; NAUEN; IRAC, 2015). Grande parte da controvérsia sobre o uso de neonicotinoides concentrou-se em seus efeitos sobre as abelhas. Esses compostos são usados rotineiramente para proteger sementes de girassol e milho, e ambas culturas são as principais fontes de alimento para as abelhas e polinizadores selvagens em paisagens agrícolas. Devido a propriedade sistêmica observada em representantes desse grupo, pequenas concentrações de neonicotinoides são encontradas tanto em pólen e néctar de culturas que tiveram suas sementes tratadas previamente. O uso generalizado, mas não quantificado de neonicotinoides como pulverizações foliares em jardins, onde são recomendados para uso em ambos os legumes e flores, fornece mais uma via de exposição para polinizadores (DEFRA, 2012; LYE et al., 2011).

Dentre os diversos neonicotinoides, o acetamiprido, (E)-N1-[6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N2-cyano-N1-methylacetamidine, composto com fórmula $C_{10}H_{11}ClN_4$ é um produto fitossanitário utilizado na aplicação em algodão, batata, feijão, maçã, mamão, melancia, melão, pinhão-manso, tomate e trigo. Na aplicação em sementes é utilizado no algodão, arroz, milho, soja e trigo. Também pode ser utilizado em pinçelamento no tronco de café e citros. Sua classificação toxicológica é de nível III (BRASIL, 2015).

Acetamiprido é considerado um produto de amplo espectro como o imidacloprido, sendo registrado no Japão contra a traça da couve e de algumas frutas *Plutella xylostella* Linneaus, 1758 (Insecta: Lepidoptera) (IWASA et al., 2004). De acordo com Takahashi (1992), acetamiprido parece ser mais seguro para as abelhas do

gênero *Apis* do que *Bombus*, porém, de uma maneira geral, é considerado mais seguro para as abelhas que os demais representantes dos neonicotinoides. A variação existente é devida, principalmente, à estrutura química dos produtos fitossanitários desse grupo e a afinidade pelos seus respectivos receptores nas abelhas. Por exemplo, os neonicotinoides podem ser divididos em dois grupos: (i) um formado por aqueles que possuem o radical N-nitroguanidina (imidacloprido, tiameksam, clotianidina e dinotefuram) e (ii) outro com radical N-ciano-amidina (acetamiprido e tiacloprido). Em ambos os casos, esses inseticidas são agonistas do nAChR (ELBERT et al., 2008). Estudos comparativos entre abelha e moscas mostraram que, em todos os casos, a afinidade do receptor da acetilcolina com acetamiprido é semelhante, sugerindo que a baixa susceptibilidade das abelhas não está relacionada com diferenças nos sítios de ação desses compostos (IWASA et al., 2004). Por outro lado, avaliando somente *Apis mellifera*, Linneaus, 1758 Iwasa et al. (2004) verificaram que tiameksam chega a ser 192 vezes mais tóxicos que acetamiprido e tiacloprido, sendo essa variação atribuída ao fator estrutural da molécula e no caso do acetamiprido, durante o processo de metabolismo “in vivo” não gerar compostos tóxicos como ocorre com tiameksam e imidacloprido (BRUNET; BADIOU; BELZUNCES, 2005; SUCHAIL, 2003).

Comparado com *A. mellifera*, onde diversos estudos têm avaliado os efeitos tóxicos dos neonicotinoides, incluindo o acetamiprido, pouco se sabe sobre o efeito deletério desse inseticida sobre *S. postica*, reforçando a necessidade de realização de estudos dessa natureza.

Dimetoato (organofosforado)

Inseticidas do grupo organofosforado agem como inibidores da acetilcolinesterase, que atua na degradação das moléculas de acetilcolina após a transmissão de um impulso nervoso. A intoxicação por esses compostos pode causar sintomas como tremores e convulsões, acarretando o colapso do sistema nervoso central (YU et al., 2008). Como exemplo de representante desse grupo, o dimetoato, composto com fórmula $C_5H_{12}NO_3PS_2$, com ação inseticida, acaricida e propriedade sistêmica, desenvolvido na década de 1950 e utilizado no controle de insetos em áreas urbanas e na agricultura (HEALTH CANADA, 2011; OMS, 2004). A autorização de uso do dimetoato no Brasil é para aplicação foliar e no solo, nas culturas de algodão, citros, maçã, rosa, tomate e trigo (BRASIL, 2016).

Por se tratar de uma molécula com mais de meio século de desenvolvimento e uso, diversos estudos foram realizados com intuito de avaliar seu potencial tóxico contra insetos benéficos (SCOY; PENNELL; ZHANG, 2016). Especificamente sobre abelhas, estudos realizados demonstraram que dimetoato é extremamente tóxico para *Apis mellifera* Linneaus, 1758 (DL50 = 191 ng i.a./abelha) (ATKINS; KELLUM; ATKINS, 1981). Comparando com produtos fitossanitários modernos, como os neonicotinoides (tiametoxam, clotianidina e imidacloprido) que apresentam toxicidade aguda (DL50) na ordem de alguns nanogramas (IWASA et al., 2004), o dimetoato chega a ser até 20 vezes menos tóxico para as abelhas. Entretanto, quando comparado os resíduos de ambas as classes de inseticida em pólen e néctar, enquanto os neonicotinoides são encontrados em níveis de 0,100 ppm, o dimetoato pode alcançar até 3 ppm, demonstrando o alto risco de exposição as abelhas (BARKER; LEHNER; KUNZMANN, 1980; BLACQUIERE et al., 2012).

Waller, Barker e Martim (1979) demonstraram que operárias de *Apis mellifera* Linneaus, 1758 coletam recurso alimentar (solução de sacarose) contaminado por dimetoato (doses realísticas) e que ao atingirem valores próximos da DL50 (alcançado em menos de 50 viagens de coleta), foram observados aumento na mortalidade de adultos e larvas, com consequente declínio da colônia. Resultado semelhante foi observado por Lesing (1986) contaminando uma colônia com uma dose subletal, observando redução na oviposição, no desenvolvimento larval e no tamanho das glândulas hipofaringeanas. Não obstante, em condições de campo, quando plantas de citros em florescimento foram pulverizadas com dimetoato, observaram-se redução na visita por abelhas mesmo duas semanas após a aplicação (WALLER, 1984). Portanto, devido à toxicidade e risco comprovados do dimetoato para as abelhas *A. mellifera*, e após 12 anos consecutivos de estudos de toxicidade aguda, Gough, McIndoe e Lewis (1994) sugeriram que este organofosforado seja considerado como o inseticida padrão em estudos de toxicidade. As principais agências reguladoras da Europa, Estados Unidos da América e a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico, utilizam o dimetoato como o padrão positivo nos estudos toxicológicos (MEDRZYCKI et al., 2013). Especificamente para as abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804 não existem informações a respeito da toxicidade deste inseticida.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como as causas desse desaparecimento não são conclusivas, é difícil pensar em soluções para este problema. Por isso a importância de se trabalhar com a inclusão de diversas variáveis apontadas como possíveis causas desse declínio de populações de polinizadores. As medidas devem começar principalmente pelo planejamento de uma restauração ecológica, com o intuito de aumentar a abundância local de espécies polinizadoras, melhorando tanto as relações com espécies vegetais nativas e com os ambientes agrícolas adjacentes. É necessário um planejamento crítico de gestão de habitat e planos de restauração para que isso seja feito da forma correta. Locais com vegetação nativa e espécies de abelhas sem ferrão endêmicas devem ser priorizadas.

No caso da agricultura, é importante pensar em alternativas menos impactantes para as abelhas. Os agricultores podem contar com métodos equivocadamente chamados de “alternativos”, como é o caso do controle biológico de pragas através do uso de predadores, parasitoides e entomopatógenos, além de outras práticas ambientalmente amigáveis. É importante que os impactos sobre polinizadores sejam considerados no projeto e escolha de métodos de aplicação de produtos fitossanitários, especialmente durante o período que antecede a floração, quer seja em culturas dependentes de polinizadores ou não.

Diante de todos os relatos de declínio de populações de abelhas no mundo, é fácil prever os prejuízos para a apicultura/meliponicultura, para o agronegócio e principalmente o meio ambiente, caso não sejam tomadas medidas para mitigar este fato.

REFERÊNCIAS

- ANDEF-ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DEFESA VEGETAL. Liderança em tecnologia fitossanitária. 2009. Disponível em:
<<http://www.andef.com.br/2008/opiniao.asp?numero=181>>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- ALEIXO, K.P; FARIA, L.B de; GROOPPO, M; CASTRO, M.M.N; SILVA, C.I. Spatiotemporal distribution of floral resources in a Brazilian city: Implication for the maintenance of pollinators, especially bees. British Columbia, **Urban Forestry and Urban Greening**, v.13, p.689-696, 2014.
- ATKINS, E.L; KELLUM, D; ATKINS, K.W. **Reducing pesticides hazards to honey bees: mortality prediction techniques and integrated management strategies.** University of California, Division of Agricultural Science, 1981.
- BARKER, R.J; LEHNER, Y; KUNZMANN, M.R. Pesticides and honey bees: Nectar and pollen contamination in alfalfa treated with dimethoate. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.9, p.125-133, 1980.
- BAUER, D.M; WING, I.S. Economic consequences of pollinator declines: A synthesis. **Agricultural and Resource Economics Review**, Cambridge, v.39, p.368-383, 2010.
- BESPALHOK, F.J.C; GUERRA, E.P; OLIVEIRA, R.A. Capítulo 4: **Sistemas Reprodutivos de Plantas Cultivadas**. Disponível em:
<<http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%204.pdf>>. 2016. Acesso em: 18 fev. 2016.
- BLACQUIERE, T; SMAGGHE, G; van GESTEL, C.A.M; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, New York, v.21, p.973-992, 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice Monográfico Dimetoato.** 2003. Disponível em:
<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1474a20047458f9498ccdc3fbc4c6735/d18.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 23 fev. 2016.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice Monográfico Acetamiprido.** 2006. Disponível em:
<<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/A29%2B%2BAcetamiprido.pdf/2b262563-b2e3-442c-9f86-4334aa0aa2c5>>. Acesso em: 12 jan. 2016.
- BRUNET, J.L.; BADIOU, A.; BELZUNCES, L.P. *In vivo* metabolic fate of [14C]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *Apis mellifera* Linneaus, 1758. **Pest Management Science**, Sussex, v.61, p.742-748, 2005.
- BYRNE, F.J; TOSCANO, N.C. Uptake and persistence of imidacloprid in grapevines treated by chemigation. **Crop Protection**, Guildford, v.25, p.831-834, 2006.

CARVALHO, A.M; COELHO, M.C; DANTAS, R.A; FONSECA, O.P; GUIMARÃES JUNIOR, R; FIGUEIREDO, C.C. Chemical composition of cover plants and its effect on maize yield in no-tillage systems in the Brazilian savanna. **Crop and Pasture Science**, Victoria, v.65, p.1075-1081, 2012.

CASTLE, S.J; BYRNE, F.J; BI, J.L; TOSCANO, N.C. Spatial and temporal distribution of imidacloprid and thiamethoxam in citrus and impact on *Homalodisca coagulata* (Say) populations. **Pesticide Management Science**, [s.l], v.61, p.75-84, 2005.

CASTRO, F. **Estudo mapeia 214 espécies de abelhas**. Disponível em: <<http://abelha.org.br/estudo-mapeia-214-especies-de-abelhas/>>. 2015. Acesso em: 12 nov. 2015.

CBA. **Confederação Brasileira de Apicultura**. Disponível em: <<http://brasilapicola.com.br/>>. 2015. Acesso em: 14 jan. 2016.

CHAMBÓ, E.D. Aplicação de inseticida e seus impactos sobre a visitação de abelhas (*Apis mellifera* L.) no girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, São Paulo, v.5, p.37-42, 2010.

CHIARI, W.C.; TOLEDO, V.D.A.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M.C.C. Pollination of soybean (*Glycine max* L. Merril) by honeybees (*Apis mellifera* L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, p.31-36, 2005.

DAG, A; ZIPORI, I; PLESER, Y. Using bumblebees to improve almond pollination by the honeybee. **Journal Apicultural Research**, Sussex, v.45, p.215-216, 2006.

DAINAT, B; van ENGELSDORP D; NEUMANN, P. Colony collapse disorder in Europe. **Environmental Microbiology Reports**, [s.l], v.4, p.123-125, 2012.

DAMASCENO, A.G. **Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) visitantes das inflorescências da sucupira-branca *Pterodon emarginatus* Vogel (Leguminosae: Papilionoideae) e do baru *Dipterys alata* Vogel (Leguminosae: Papilionoideae) em área de cerrado em Brasilândia de Minas, MG**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, 1998.

DEFRA. Department for Environment, Food and Rural Affairs. **Farming statistics: final crop areas, yields, livestock population and agricultural workforce**, 2012.

DEVILLERS, J; PHAM-DELÈGUE, M.H. Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals, **Library of Congress**, 2002.

ELBERT, A; HAA, M; SPRINGER, B; THIELERT, W; NAUEN, R. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v.64, p.1099-1105, 2008.

ERICKSON, E.H; BERGER, G.A; SHANNON, J.G; ROBIN, J.M. Honey bee pollination increases soybean yields in the Mississippi delta region of Arkansas and Missouri. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.71, p.601-603, 1978.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. 2015. Acesso em: 14 set. 2015.

FORISTER, M.L; McCALL, A.C; SANDERS, N.J; FORDYCE, J.A; THORNE, J.H; O'BRIEN, J; WAETJEN, D.P; SHAPIRO, A.M; BERENBAUM, M.R. Compounded Effects of Climate Change and Habitat Alteration Shift Patterns of Butterfly Diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Whashington DC, v.107, p.2088-2092, 2010.

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

GIANNINI, T.C; BOFF, S; CORDEIRO, G.D. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. **Apidologie**, Versailles, v.46, p.209-223, 2015.

GIANNINI, T.C; CORDEIRO, G.D; 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**, Lanham, v. p.1-9, 2015.

GOUGH, H.J; McINDOE, E.C; LEWIS, G.B. The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. **Journal of Apicultural Research**, London, v.33, p.119-125, 1994.

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

HEALTH CANADA, **Archived-Proposed Re-evaluation Decision PRVD2011-12 Dimethoate**. Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/cpsspc/pest/part/consultations/_prvd2011-12/prvd2011-12-eng.php>. 2011. Acesso em: 01 out. 2015.

HOLDEN, C. Report warns of looming pollination crisis in North America. **Science**, Whashington DC, v.314, p.397, 2006.

IWASA, T. MOTOYAMA, N; AMBROSE, J.T; ROE, R.M. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, Guildford, v.23, p.371-378, 2004.

JACOB, C.R.O; SOARES, H.M; CARVALHO, S.M; NOCELLI, R.C.F; MALASPINA, O. Acute Toxicity of Fipronil to the Stingless Bee *Scaptotrigona postica* Latreille. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New Yor, v.90, p.69-72, 2012.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A.T.; MAIA, U.M.; BLOCHSTEIN, B.; CARVALHO, C.A.L.; CARVALHO-ZILSE, G.A.; FREITAS, B.M.; MENEZES, C.; RIVIEIRO, M.F.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PLOS ONE**, [s.l], v.10, p.21, 2015.

JESCHKE, P; NAUEN, R; SCHINDLER, M; ELBERT, A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.59, p.2897-2908, 2011.

KEARNS, C. A.; INOUYE, D. W. Pollinators, flowering plants, and conservation biology. **BioScience**, Washington DC, v.47, p.297-307, 1997.

KLEIN, A.M; VAISSIÈRE, B.E; CANE, J.H; STEFFAN-, I; CUNNINGHAM, S.A., KREMEN, C; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, 2007.

KOLLMEYER, W.D; FLATTUM, R.F; FOSTER, J.P; POWELL, J.E; SCHROEDER, M.E; SOLOWAY, S.B. **Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides. Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor**, 1999.

KREMEN, C. Assessing the indicator properties of species assemblages for natural areas monitoring. **Ecological Applications**, Tempe, v.02, p.203-217, 1992.

KREMEN, C. Pollination services and community composition: does it depend on diversity, abundance, biomass or species traits? In: Freitas & Pereira (ed.), **Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination**, 2004.

LAUTENBACH, S; SEPPELT, R; LIEBSCHER, J; DORMANN, C.F. Spatial and temporal trends of global pollination benefit. **PLOS ONE**, [s.l], v.7, p.1-16, 2012.

LE CONTE, Y; NAVAJAS, M. Climate change: impact on honey bee populations and diseases. **Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties**, v.27, p.499-510, 2008.

LENSING, W. Changes in honeybee workers after feeding them with sublethal doses of dimethoate. **Apidologie**, Versailles, v.17, p.340-342, 1986.

LYE, G.C; JENNINGS, S.N; OSBORNE, J.L; GOULSON, D. Impacts of the use of nonnative commercial bumble bees for pollinator supplementation in raspberry. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.104, p.107-114, 2011.

MCGREGOR, S.E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture, 1976.

MCINTYRE, N.E. Ecology of urban arthropods: a review and a call to action. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.93, p.825-835, 2000.

MCKINNEY, M.L. Effects of urbanization on species richness: a review of plants and animals. **Urban Ecosystems**, v.11, p.161-176, 2008.

MEDRZYCKI, P; GIFFARD, H; AUPINEL, P; BELZUNCES, L.P; CHAUZAT, M-P; CLABEN, C; COLIN, M.E; DUPONT, T; GIROLAMI, V; JOHNSON, R; CONTE, Y.L; LUCKMANN, J; MARZARO, M; PISTORIUS, J; PORRINI, C; SCHUR, A; SGOLASTRA, F; DELSO, N.S; STEEN, J.J.M van der; WALLNER, K; ALAUX, C; BIRON, D.G; BLOT, N; BOGO, G; BRUNET, J-L; DELBAC, F; DIOGON, M; ALAOUI, H.E; PROVOST, B; TOSI, S; VIADAU, C. Standard methods for toxicology research in *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, London, v.52, p.1-60, 2013.

MICHENER, C.D. **The social behavior of bees: a comparative study**. Cambridge: The Blacknap Press, 1974.

MILFONT et al. Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. **Environmetal Chemical Letters**, v.11, p.335-341, 2013.

MORAES, S.S; BATISTA, A.R.L; VIANA, B.F. Avaliação da toxicidade aguda (DL50 e CL50) de inseticidas para *Scaptotrigona tubita* (Smith) (Hymenoptera: Apidae): via de contato. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, 2000.

MORON, D; GRZES, I.M; SKÓRKA, P; SZENTGYÖRGYI, H; LASKOWSKI, R; POTTS, S.G; WOYCIECHOWSKI. Abundance and diversity of wild bees along gradients of heavy metal pollution. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.49, p.118-125, 2012.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**, São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997.

OLDROYD, B.B; What's killing American honey bees? **PLoS Biology**, v.5, p.1195-1199, 2007.

OMS. World Health Organization. **Dimethoate in Drink Water**. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality, 2004.

PARKER, V.J; BATRA, F.D; TEPENDINO, S.W.T. New pollinators for our crops. **Agricultural Zoology Review**, v.2, p.279-307, 1987.

PAUDEL, Y.P; MACKERETH, R; HANLEY, R; QIN, W. Honey bees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: current status, impacts, and potential drivers of decline. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.07, p94-109, 2015.

PETTIS, J.S; DEPAPLANE, K.S. Coordinated responses to honey bee decline in the USA. **Apidologie**, Versailles, 2010.

POTTS, S.G. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. **Journal of Apicultural Research**, London, v.49, p.15-22, 2010.

RADER, R; HOWLETT, B.G; CUNNINGHAM, S.A; WESTCOTT, D.A; NEWSTROM-LLOYD, L.E; WALKER, M.K. Alternative pollinator taxa are equally efficient but not as effective as the honeybee in a mass flowering crop. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.46, p.1080-1087, 2009.

RECH, A.R; AGOSTINI, K; OLIVEIRA, P.E; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**, Projeto Cultura. Rio de Janeiro, 2014.

RICHARDS, K.W. Comparative efficacy of bee species for pollination of legume seed crops. **Linnean Society Symposium Series**, v.18. Academic press limited, 1996.

ROBACKER, D.C; FLOTTUM, P.K; SAMMATARO, D; ERICKSON, E.H. Effects of climatic and edaphic factors on soybean flowers and on the subsequent attractiveness of the plants to honey bees. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.6, p.267-278, 1983.

ROBINSON, W.S; NOWOGRODZKI, R; MORSE, R.A. **The value of honey bees as pollinators of US crops**, 1989.

RUGGIERO, M; HEALY, M. The US Federal Conservarion Agency's Interest in Saving Wild Pollinators. In: **Pollinating Bees – The Conservation Link Between Agriculture and Nature** – Ministério do Desenvolvimento, Brasília, 2002.

SCOY, V.A; PENNELL, A; ZHANG, X. Environmental Fate and Toxicology of Dimethoate. **Reviews of Environmental Contamination Toxicology**, v.237, p.53-70, 2016.

SPARKS, T.C.; NAUEN, R. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.121, p.122-128, 2015.

SUCHAIL, S. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, Sussex, v.60, p.291-296, 2003.

SUCHAIL, S.G; GUEZ, D; BELZUNCES, L.P. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. **Enviromental Toxicology Chemistry**, v.19, p.1901-1905, 2000.

SCHWEIGER, O; SETTELE, J; KUDRNA, O; KLOTZ, S; KÜHN, I. Climate Change Can Cause Spatial Mismatch Of Trophically Interacting Species. **Ecology**, Cary, v.89, p.3472-3479, 2008.

TAKAHASHI, H; MITSUI, J; TAKAKUSA, N; MASTUDA, M; YONEDA, H; SUZUKI, J; ISHIMITSU, K; KISHIMOTO, T. Takahashi, H.,Mitsui,J.,Takakusa, NI-25, a new type of systemic and broad spectrum insecticide. Brighton Crop Protection Conference, Brighton, UK. **Pests and Diseases**, v.1, 1992.

TOMIZAWA, M; CASIDA, J.E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of Selective Action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v.45, p.247-268, 2005.

USSEC. U.S. SEC 2008 **Performance and accountability report**. Disponível em: <https://www.sec.gov/about/secpar2008.shtml>, 2008.

van ELGELSDORP, 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**, [s.l], v.4, p.1-17, 2007.

WALLER, G.D; BARKER, R.J; MARTIN, J.H. Effects of dimethoate on honey bee foraging. **Chemosphere**, Oxford, v.8, p.461-463, 1979.

WALLER, G.D; ERICKSON, B.J; HARVEY, J; MARTIM, J.H. Effects of dimethoate on honey bees (Hymenoptera: Apidae) when applied to flowering lemons. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.77, p.70-74, 1984.

WITTER, S; NUNES-SILVE, P; BLOCHSTEIN, B; LISBOA, B.B; IMPERATRIS-FONSECA, V.L. **As abelhas e a Agricultura**. EDI PUCRS, 2014.

WOLFF, L.F. **Abelhas melíferas, bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2008.

YAMAMOTO, I; CASIDA, J.E. **Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor**. Springer, Tokyo, 1999.

YU, F; WANG, Z; JU, B; WANG, Y; WANG, J; BAI, D. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E. **Experimental and Toxicology Pathology**, v.59, p.15-23, 2008

CAPÍTULO 2

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804 (HYMENOPTERA: APIDAE)

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804 (HYMENOPTERA: APIDAE)

RESUMO

O declínio de populações de abelhas tem sido amplamente discutido e estudado no mundo, em especial com a espécie *Apis mellifera* Linneaus, 1758. Contudo, devido a diversidade do grupo, o acompanhamento da dinâmica de populações de polinizadores também é necessário para subsidiar as estratégias de proteção e manejo. Dentre os agentes causadores de perturbações no organismo, a exposição aos produtos fitossanitários pode prejudicar o desempenho e a sobrevivência dos indivíduos e das colônias. Desta maneira, o objetivo foi avaliar a toxicidade dos inseticidas acetamiprido e dimetoato para a abelha *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804. Após a coleta dos indivíduos em ninhos naturais mantidos no campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, as abelhas foram transportadas até o laboratório para realização dos estudos. Inicialmente foram realizados estudos de toxicidade aguda, determinando-se a dose letal 50 (DL50) de ambos os inseticidas para *S. postica*. Em uma segunda etapa foram estabelecidas doses subletais equivalentes a $1/10$, $1/100$ e $1/1000$ da DL50. Os dados foram expressos em relação ao indivíduo e também como o equivalente em massa corporal (miligramas). Para o acetamiprido, os dados de DL50 obtidos foram de 173,04, 105,63 e 58,71 μg i.a./abelha (equivalente a 0,0118, 0,0072 e 0,0040 μg i.a./mg de massa corpórea), respectivamente para 24, 48 e 72 horas. No caso do dimetoato em 24, 48 e 72 horas, as DL50 foram respectivamente de 9,71, 2,50 e 0,59 μg i.a./abelha (equivalente a 0,00066, 0,00017 e 0,00004 μg i.a./mg de massa corpórea). Os resultados obtidos para o teste de sobrevivência mostraram que doses subletais equivalentes a $1/100$ e $1/1000$ daquela da DL50, não afetaram a sobrevivência das abelhas, sendo idênticas ao tratamento controle. Nesses casos, os tempos letais 50 (TL50) para as doses mencionadas com o tratamento controle foram de 104,03 e 124,21 horas, para acetamiprido e dimetoato, respectivamente. No caso do organofosforado, os tratamentos com a dose de $1/10$ daquela da DL50 e a própria DL50, formaram um mesmo grupo com TL50 de 80,08 horas. Para o neonicotinoide, a dose de $1/10$ daquela da DL50 apresentou TL50 intermediária (63,76 horas) e a menor expectativa de vida foi observada para o tratamento com a DL50, ou seja, 27,29 horas. Os resultados obtidos sugerem que doses subletais ($1/100$ e $1/1000$ da DL50) possivelmente podem ser consideradas seguras a *S. postica* quando avaliado somente a sobrevivência das abelhas. Entretanto, o risco de exposição das abelhas as doses elevadas existem e não podem ser omitidos, sendo necessário a realização de novas pesquisas para mesurar o impacto sobre a os indivíduos e da colônia.

Palavras-chave: abelha nativa, inseticida, organofosforado, neonicotinoide, análise de risco.

TOXICITY TO ACETAMIPRID AND DIMETHOATE TO *Scaptotrigona postica*
Latreille, 1804 (HYMENOPTERA: APIDAE)

ABSTRACT

The decline of bee populations widely discussed and studied in the world, especially with the *Apis mellifera* Linneaus, 1758. However, with to the diversity of the group, monitoring the dynamics of pollinator populations it is also necessary to support the protection and management strategies. Among the agents that cause disturbances in the body, exposure to pesticides can impair performance and survival of individuals and colonies. The objective was to evaluate the toxicity of pesticides Acetamiprid and dimethoate for bee *Scaptotrigona Postica* Latreille, 1804. After collection of individuals in natural nests maintained in Umuarama campus of the Federal University of Uberlândia, the bees transported to the laboratory for carrying out the studies. The objective of this study was to evaluate the acute toxicity (LD50) of acetamiprid and dimethoate insecticides to the native stingless bee *S. Postica*. In a second step sublethal doses equivalent were set to $1/10$, $1/100$ and $1/1000$ of the DL50. The data expressed relative to individual as well as the equivalent of body weight (mg). For Acetamiprid, LD50 data obtained were 173.04, 105.63 and 58.71 μg a.i./bees (equivalent to 0.0118, 0.0072 and 0.0040 μg a.i./mg body mass), respectively for 24, 48 and 72 hours. In the case of dimethoate 24, 48 and 72 hours, the LD50 were respectively 9.71, 2:50 and 0.59 μg a.i./bee (equivalent to 0.00066, 0.00017 and 0.00004 μg a.i./mg body mass). The results obtained for the survival test showed that sublethal doses equivalent to $1/100$ to $1/1000$ that of DL50 did not affect the survival of bees, being identical to the control. In such cases, lethal times 50 (TL50) to the doses mentioned in the control treatment were 104.03 and 124.21 hours for Acetamiprid and dimethoate, respectively. The case of the organophosphate treatments with a dose of $1/10$ of that of LD50 and LD50 itself formed with a group of LT50 80.08 hours. For the neonicotinoid, the dose of $1/10$ LD50 showed that LT50 intermediate (63.76 hours) and lower life expectancy observed treatment with the LD50 that is 27.29 hours. The results suggest that sublethal doses ($1/100$ and $1/1000$ LD50) may possibly be considered safe *S. Postica* when only evaluated the survival of bees. However, the risk of exposure of honeybees high doses exist and can't be omitted, being necessary to carry out further research to measure the impact on individuals and the colony.

Key-words: stingless bee, insecticide, organophosphate, neonicotinoid, risk assessment.

TOXICIDADE DO ACETAMIPRIDO E DIMETOATO PARA A ABELHA

Scaptotrigona postica Latreille, 1804 (HYMENOPTERA: APIDAE)

INTRODUÇÃO

As abelhas são consideradas como bioindicadores da poluição ambiental (CELLI; MAcCAGNANI, 2003). Devido à polinização e ao processo de coleta de recursos no ambiente, é fácil imaginar que polinizadores nativos (ou outros animais que ocupam o mesmo nicho ecológico) presentes em áreas antrópicas sofrerão algum tipo de estresse. Por essa razão, a comunidade científica deve trabalhar para conhecer os riscos dos poluentes para as abelhas e, ao fazer isso, propor estratégias de proteção e manejo.

A polinização realizada por insetos é vital para os ecossistemas terrestres e para a produção de culturas. A maioria das culturas se beneficiam de insetos polinizadores, que fornecem um serviço global estimado em bilhões de dólares na produção de alimentos (KLEIN; DEWENTER; TSCHARNTKE, 2003). Assim, a chance de que ocorra uma "crise no serviço de polinização", onde o rendimento das culturas reduz por causa da polinização ineficiente e/ou inadequada, tem gerado um debate compreensível e estimulando pesquisadores nas últimas décadas (GALLAI et al., 2009). No entanto, continuam a ser substanciais as lacunas de conhecimento no que diz respeito tanto à extensão e as causas do declínio em populações de polinizadores. Na verdade, em diversos países e para a maioria dos polinizadores nativos, os dados são escassos (GOULSON et al., 2015),

O acompanhamento eficaz das populações de polinizadores nativos é primordial, podendo servir como dados para estratégias de preservação e manutenção desses insetos no futuro. (POTTS, 2010). As abelhas encontram-se sujeitas a numerosas ameaças devido a redução da abundância e a diversidade de flores, além de serem expostas a uma mistura de produtos fitossanitários e concomitantemente ameaçadas por novos parasitoides e patógenos. É consenso que agentes que perturbam o ambiente não atuam isoladamente. Exposição a produtos fitossanitários podem prejudicar ambos os mecanismos de desintoxicação e resposta imune, tornando abelhas mais suscetíveis a doenças (GOULSON et al., 2015).

No ambiente encontram-se presentes altas taxas de substâncias tóxicas, contribuindo para o declínio da saúde das colônias de abelhas em muitos países.

Produtos fitossanitários merecem um destaque em relação a estudos nas diversas frentes de pesquisa, uma vez que são responsáveis por causar, em doses subletais, efeitos negativos aos indivíduos e para as colônias (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; MAINI; MEDRZYCKI; PORRINI, 2010).

Os efeitos comportamentais dos produtos fitossanitários sobre *Apis mellifera* Linneaus, 1758 têm sido investigados nos últimos anos (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). A pressuposição sobre os efeitos subletais surgiram em função da observação de colmeias pelos apicultores, uma vez que elas foram instaladas próximo de campos semeados com sementes tratadas. Esses profissionais presumiram que abelhas campeiras ao coletarem néctar e pólen, de alguma forma foram expostas a doses de produtos fitossanitários, afetando negativamente as habilidades cognitivas, inclusive a orientação espacial e retorno a colmeia (CHAUZAT et al., 2009).

Nesse sentido, o comportamento de coleta de recursos alimentares por abelhas tratadas com dois grupos de inseticidas, os neonicotinoides, por exemplo, imidacloprido, (DECOURTYE; DEVILLERS, 2010; DESNEUX, DECOURTYE; DELPUECH, 2007) e fenilpirazois (ALIOUANE et al., 2009; EL HASSANI et al., 2005), foram avaliados.

Fipronil é um inseticida fenilpirazol de segunda geração amplamente utilizado em medicina veterinária. Tem excelente atividade terapêutica e persistente contra carapatos e pulgas quando administrados por via tópica em animais domésticos. Como fipronil também é eficaz em baixas doses contra numerosos insetos terrestres, como insetos pragas de culturas é igualmente utilizado como um produto fitossanitário (EL HASSANI et al., 2005). No entanto, o fipronil é altamente tóxico para os insetos não-alvo e a DL50 em abelhas é muito baixa, cerca de 6.2 ng i.a./abelha (DECOURTYE, 2002).

A exposição repetida ao longo do tempo durante as viagens de coleta, podem induzir a deficiência de mobilidade ou orientação espacial além das perdas de operárias que não retornaram as colmeias. Pela complexidade dos sistemas envolvidos no comportamento de coleta de recursos, torna-se difícil estimar a extensão dos possíveis efeitos tóxicos dos produtos fitossanitários sobre os polinizadores, sendo os sintomas, na maioria das vezes, mesuráveis naquelas situações onde o período de exposição é prolongado ou ocorre intoxicação com doses mais elevadas (crônicas ou mesmo aguda) (VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003). Suchail, Guez e Belzunces (2001) observaram que os primeiros sintomas de envenenamento apareceram após a ingestão

oral de imidacloprido, tais como o comportamento de imobilidade, hiperatividade e tremores. El Hassani et al. (2005) concluíram que fipronil não teve efeito sobre a atividade motora independente da rota de administração (oral ou tópica), porém, em outro estudo, ficou evidenciado que a exposição repetida ao fipronil induziu um aumento significativo da mobilidade (ALIOUANE et al., 2009).

Dentre os inseticidas do grupo dos neonicotinoides, o acetamiprido foi introduzido em meados dos anos de 1990. Esse produto fitossanitário é utilizado na agricultura e também em algumas situações no manejo domissanitário (MATSUDA; TAKAHASHI, 1996). Neonicotinoides são agonistas dos receptores nicotínicos da acetilcolina (nAChR) (TOMIZAWA; YAMAMOTO, 1993), são eficientes no controle de insetos, principalmente sugadores e seletivos a mamíferos, tornando-os seguros no âmbito da segurança ocupacional e do consumidor. Por outro lado, devido a sua propriedade sistêmica e riscos de contaminação de exsudados vegetais, os neonicotinoides são apontados como um dos principais responsáveis pelo declínio das populações de abelha (GOULSON et al., 2015; SPARK; NAUEN; IRAC, 2015).

Não menos importante, o dimetoato, um produto organofosforado desenvolvido na década de 1950 e utilizado mundialmente na agricultura e áreas urbanas para controlar insetos e ácaros (MIRAKJAR; POPE, 2005), também é alvo de questionamentos sobre a segurança para organismos não alvo e ao homem. Também pela sua propriedade sistêmica, estudos demonstram que dimetoato pode ser encontrado em recursos florais (néctar e pólen) e afetar indivíduos e a dinâmica da colmeia (WALLER; BARKER; MARTIN, 1979; WALLER et al., 1984). Não obstante, devido a sua toxicidade para *Apis mellifera* Linneaus, 1758 e após diversas pesquisas o dimetoato foi sugerido como sendo a referência em estudos toxicológicos com abelhas (GOUGH; McINDOE; LEWIS, 1994; MEDRZYCKI et al., 2013).

Pensando na importância e segurança de polinizadores, é importante destacar que a superfamília Apoidea possui uma grande diversidade de insetos e não pode ser analisada somente com a utilização de uma única espécie (*A. mellifera*) como modelo de estudo. Espécies de abelhas nativas sem ferrão (meliponíneos) têm uma importância significativa na polinização de espécies vegetais nativas, cultivadas e da manutenção dos ecossistemas (JAFFÉ et al., 2015). Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda (DL50) dos dois produtos fitossanitários acetamiprido e dimetoato para abelha nativa sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804. Em uma segunda etapa, com base nos valores de DL50 dos produtos e informações sobre níveis

de resíduos encontrados dessas moléculas em recursos florais e outros exsudados vegetais, foram estabelecidas doses subletais para intoxicação das abelhas e verificação da expectativa de vida em condições laboratoriais.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção dos ninhos e coleta

A abelha *S. postica* utilizada para o estudo foram capturadas em ninhos naturais instalados em árvores de Sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa*) localizadas no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia/UFU, Uberlândia, Minas Gerais. A coleta foi realizada com auxílio de uma rede entomológica instalada na entrada da colmeia. Após a captura, as abelhas foram transportadas até o Laboratório de Entomologia do Instituto de Ciências Agrárias/ICIAG e individualizadas em gaiolas plásticas 250 mL dotadas de orifícios para ventilação. No interior de cada gaiola foram colocados 10 indivíduos. Até a realização dos ensaios, as gaiolas foram mantidas em câmara climática à $28\pm2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $65\pm5\%$ e escotofase. Os indivíduos eram mantidos confinados antes da aplicação do ingrediente ativo somente o tempo necessário para o preparo das soluções e aplicações (por volta de 1 hora e 30 minutos). A dieta utilizada para a alimentação das abelhas em todos os experimentos foi composta por uma solução de mel + água (1:1 v/v) e adicionada gelatina comestível sem sabor (4% p/v) com intuito de tornar a dieta sólida, como é uma preferência do inseto em condições laboratoriais. O alimento sólido era colocado no fundo de cada gaiola em um pedaço de papel alumínio e ocorria a troca do alimento somente se ocorresse a fermentação ou acabasse ao longo do experimento. A água era colocada um algodão umedecido em um orifício aberto na tampa da gaiola somente para apoiar o algodão, que era molhado todos os dias.

Ensaios de toxicidade aguda

Os ingredientes ativos (i.a) acetamiprido e dimetoato utilizados nos experimentos foram obtidos na Sigma-Aldrich (Brasil). Para preparo das soluções, e também como controle negativo, utilizou-se a acetona pura (Vetec, Brasil).

Para cada i.a, preparou-se uma solução estoque na concentração de 1.000 ng i.a./ μ L de acetona, sendo armazenada a -20°C. Para montagem dos experimentos e preparo das soluções de trabalho, foram realizadas diluições em cascata (sequencial) até obtenção das concentrações desejadas. De maneira geral, para cada rodada experimental, foram preparadas seis soluções, cada uma com uma concentração conhecida e para cada inseticida, além do controle negativo (acetona), totalizando sete soluções para cada experimento. Para o acetamiprido as concentrações utilizadas foram controle (somente acetona), 62.5 ng i.a./abelha, 125.0 ng i.a./abelha, 250.0 ng i.a./abelha, 500.0 ng i.a./abelha, 1000.0 ng i.a./abelha e 2000.0 ng i.a./abelha. Para o dimetoato as concentrações utilizadas foram controle (somente acetona), 0.0975 ng i.a./abelha, 0.39 ng i.a./abelha, 1.5625 ng i.a./abelha, 6.25 ng i.a./abelha, 25.00 ng i.a./abelha e 100.00 ng i.a./abelha. No momento da montagem do experimento, as gaiolas contendo as abelhas foram anestesiadas com CO₂ durante 30 segundos para imobilização e aplicação dos ingredientes ativos. Esse procedimento foi realizado com auxílio de uma microseringa acoplada a um dispensador repetitivo de amostras, aplicando-se no tórax do inseto 0,5 μ L de uma respectiva solução de cada um dos inseticidas. Para cada tratamento (= concentração de um inseticida), foram usadas três gaiolas com dez abelhas cada, totalizando 30 indivíduos por tratamento (=concentração) por inseticida. O tratamento controle recebeu somente a aplicação de acetona. Em cada pote existia um algodão umedecido em água destilada e uma porção da dieta sólida fornecida *ad libitum* aos adultos. As condições climáticas foram as mesmas descritas anteriormente.

As avaliações foram feitas contando-se o número de abelhas mortas e avaliações sobre o comportamento dos insetos. Os dados foram analisados estatisticamente e determinados os valores de toxicidade aguda (dose letal 50 – DL50). Ressalta-se que experimentos dessa natureza, tornou-se necessário a realização de várias etapas para que os dados obtidos possam ser confiáveis e reproduutíveis. Todos os experimentos foram conduzidos seguindo as orientações da Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD, 1998), United States Environmental Protection Agency (USEPA, 1996) e The Association for Perioperative Practice (AfPP, 2003).

Ensaios de sobrevivência

Baseado nos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda (valores de DL50 dos inseticidas) e as informações obtidas na literatura sobre os resíduos de acetamiprido e dimetoato em folhas, exsudados florais e extraflorais, estimou-se que doses equivalentes a $1/100$ e $1/1000$ daquela equivalente a DL50, seriam valores próximos aos encontrados no campo, ou seja, situação realística e, portanto, consideradas subletais. Assim, Barker, Lehner e Kunzmann (1980) e Waller et al. (1984), relataram dados para resíduos do dimetoato variando de 0.07 a 1200 ppm. Para o acetamiprido, estudos de Mullin et al. (2010), Blacquiere et al. (2012) e Pettis e Depaplane (2010), detectou-se entre 0.0019 a 0.059 ppm e alguns casos chegando a 0.1 ppm. Adicionalmente, para cobrir uma faixa compatível com os resíduos no ambiente para ambos os inseticidas, também foram incluídos nos ensaios de sobrevivências as doses equivalentes a DL50 e aquela de $1/10$ da DL50.

Utilizando-se as soluções estoque, foram preparadas as soluções de trabalho utilizando acetona como solvente. Nesse experimento, utilizou-se cinco repetições e os outros procedimentos foram os mesmos descritos para os ensaios de toxicidade aguda.

A coleta de dados iniciou-se após 1 hora da aplicação de uma das respectivas doses de um dos i.a, e estendeu-se para as 3, 6, 12 e posteriormente a cada 12 horas até a morte do último indivíduo. O parâmetro avaliado foi a sobrevivência.

Análise dos dados

Os ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado. Para o ensaio de determinação da toxicidade aguda, os dados de mortalidade após 24, 48 e 72 horas foram submetidos à análise do tipo dose-resposta, empregando-se um modelo log-logístico do pacote “*drc*” (Analysis of Dose-Response Curves) (RITZ et al., 2015) compilado pelo software R® (2016), determinando-se o valor da dose de referência DL50, graus de liberdade do modelo, qui-quadrado calculado e intervalos de confiança a 95%. Por medida de comparação, os dados de toxicidade aguda foram expressos como quantidade (nanograma) do ingrediente ativo por indivíduo (abelha) e também como o equivalente do ingrediente ativo por massa (miligrama) corpórea. Nesse caso, foram coletadas 100 abelhas ao acaso e pesadas em balança analítica, obtendo-se a média de 14.68 mg/abelha. A sobrevivência das abelhas foi avaliada utilizando o pacote

“survival” (THERNEAU, 2016) compilado pelo software R® (2016) e empregando o modelo de Weibull, determinando-se o valor do tempo letal 50 (TL50). A comparação entre os diferentes tratamentos (concentrações de cada inseticida) foi realizada por contraste entre modelos de grupos supostamente semelhantes (Ho).

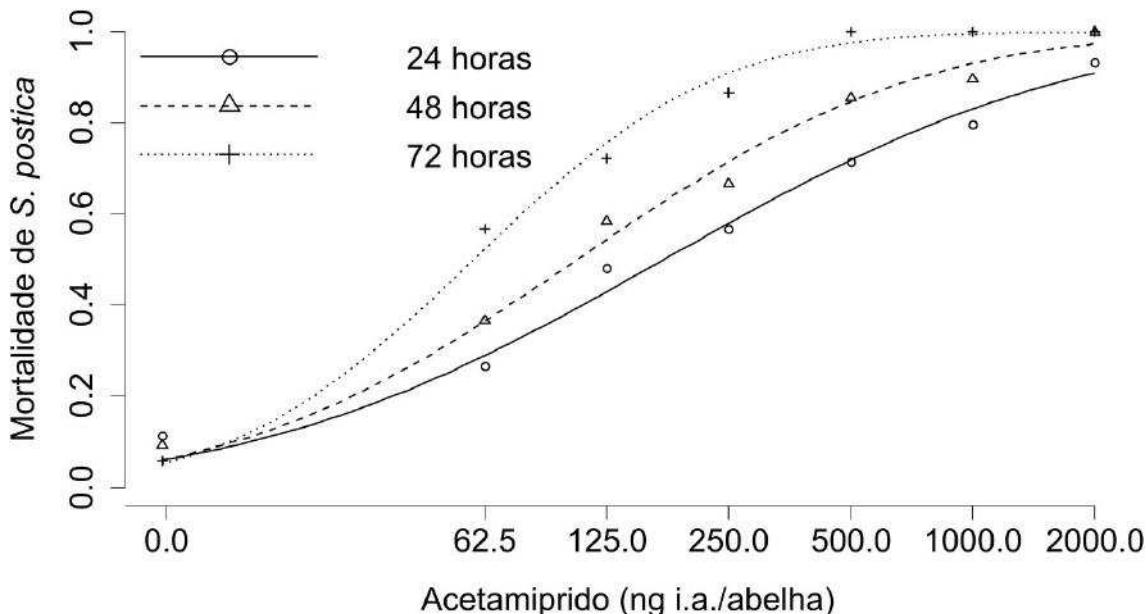
RESULTADOS

Ensaios de toxicidade aguda

Acetamiprido

Para o acetamiprido, e com os resultados de mortalidade observados após 24, 48 e 72 horas, estimou-se os dados de DL50 na ordem de: 173.04 ng i.a./abelha com um intervalo de confiança entre 102.01 a 244.7 ng i.a./abelha; 105.63 ng i.a./abelha com um intervalo de confiança entre 61.82 a 149.43 ng i.a./abelha e 58.71 ng i.a./abelha com intervalo de confiança entre 35.75 a 84.66 ng i.a./abelha, respectivamente (Figura 1 e Tabela 1).

Figura 1. Mortalidade de *Scaptotrigona postica* 24, 48 e 72 horas após a intoxicação tópica com acetamiprido.



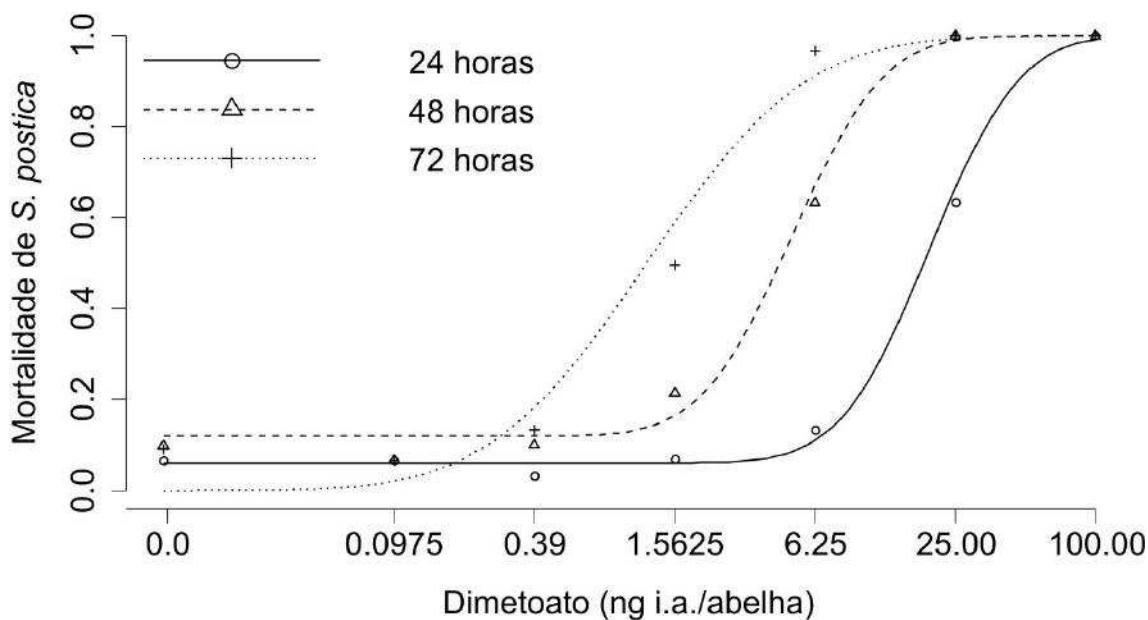
Considerando o acetamiprido, sua dose máxima recomendada é de 80 g i.a./ha para o controle de *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Insecta: Hemiptera) biótipo B em tomate. Adotando-se o mesmo princípio para determinação do coeficiente de risco (gramas do i.a. por hectare dividido pela DL50 em μg i.a.) (ATKINS; KELLUM; ATKINS, 1981; BRASIL, 2016; DEVILLERS; PHAM-DELEGUE, 2002). Nesse caso para a DL50 de 24 horas, o valor para o acetamiprido será de 462.32, ou seja, mais de 9 vezes superior ao limiar de 50, classificando-o também como muito tóxico. Comparando-se os dois inseticidas avaliados, acetamiprido e dimetoato, e baseado somente nos resultados obtidos de DL50 e de coeficiente de risco, sem incluir o estudo de sobrevivência, sugere-se que o neonicotinoide tende a ser menos impactante para a comunidade das abelhas que o organofosforado. Entretanto, durante os procedimentos de análise de risco, os estudos de toxicidade aguda e sobrevivência são primordiais para o direcionamento inicial dos estudos e, em função dos ingredientes ativos apresentarem a propriedade sistêmica, é esperado que estudos que avaliem as condições comportamentais, fisiológicas e em especial o efeito sobre a fase jovem (larvas), sejam realizados (ROUBIK, 2014).

Comparando os resultados com aqueles obtidos para *A. mellifera* (DL50 = 0.0707 μg acetamiprido / mg massa corpórea), *S. postica* (DL50 = 0.0118 μg acetamiprido / mg massa corpórea) não pode ser considerada mais suscetível ao acetamiprido, uma vez que existe uma diferença 0,16 vezes entre os valores das respectivas doses letais (IWASA et al., 2004) (Tabela 1).

Dimetoato

Os resultados de mortalidade observados após a intoxicação com dimetoato foram estimados com a DL50 (24 horas) de 9.71 ng i.a./abelha com um intervalo de confiança entre 6.45 a 12.96 ng i.a./abelha. Para 48 horas o resultado encontrado foi de 2.50 ng i.a./abelha com um intervalo de confiança entre 1.41 a 2.59 ng i.a./abelha. Com 72 horas a DL50 encontrada foi de 0.59 ng i.a./abelha com intervalo de confiança entre 0.38 a 0.80 ng i.a./abelha (Figura 2 e Tabela 1).

Figura 2 - Mortalidade de *Scaptotrigona postica* 24, 48 e 72 horas após a intoxicação tópica com dimetoato.



Considerando uma taxa de aplicação do dimetoato na ordem de 300 g i.a./ha para cultura do algodão como a maior taxa de aplicação recomendada para esse i.a (controle de percevejo-rajado *Horcias nobilellus* Bergman, 1883) (AGROFIT, 2016, ATKINS, KELLUM e ATKINS, 1981 e DEVILLERS e PHAM-DELEGUE, 2002), o coeficiente de risco (“hazard quotient”) desse produto fitossanitário assumindo a DL50 de 24 horas é próximo de 30.896 (AGROFIT, 2016, ATKINS, KELLUM e ATKINS, 1981 e DEVILLERS e PHAM-DELEGUE, 2002), ou seja, 618 vezes superior ao valor limite de 50, classificando esse produto como sendo de alto risco para as abelhas.

Em comparação com *A. mellifera* (DL50 = 0.00162 µg i.a./ mg massa corpórea) (HARDSTONE e SCOTT, 2010), a abelha nativa *S. postica* (DL50 = 0.00066 µg i.a./ mg massa corpórea) apresenta susceptibilidade semelhante, sendo que as diferenças entre as respectivas doses letais são da ordem de 40% (Tabela 1).

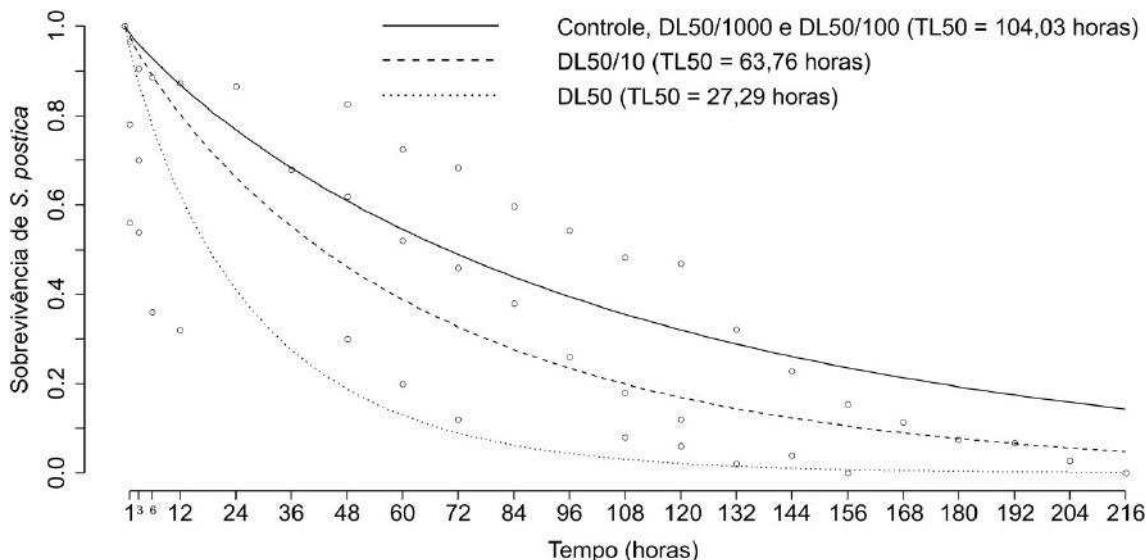
Ensaios de sobrevivência

Acetamiprido

Para o acetamiprido, igualmente como foi observado para o dimetoato, as doses equivalentes a $1/100$ e $1/1000$ da DL50 juntamente com o tratamento controle, formaram um só grupo com expectativa de vida média de 4 dias e 8 horas (104.03 horas). Por

outro lado, observou-se que o tratamento com a dose equivalente a $1/10$ da DL50 apresentou comportamento intermediário e diferente dos demais, sendo que as operárias de *S. postica* sobreviveram em média 2 dias e 15 horas (63.76 horas).

Figura 3. Sobrevivência de *Scaptotrigona postica* após a intoxicação tópica com diferentes doses do acetamiprido. Controle = acetona; DL50 = 173.04 ng i.a./abelha; DL50/10 = 17.304 ng i.a./abelha; DL50/100 = 1.7304 ng i.a./abelha; DL50/1000 = 0.17304 ng i.a./abelha.



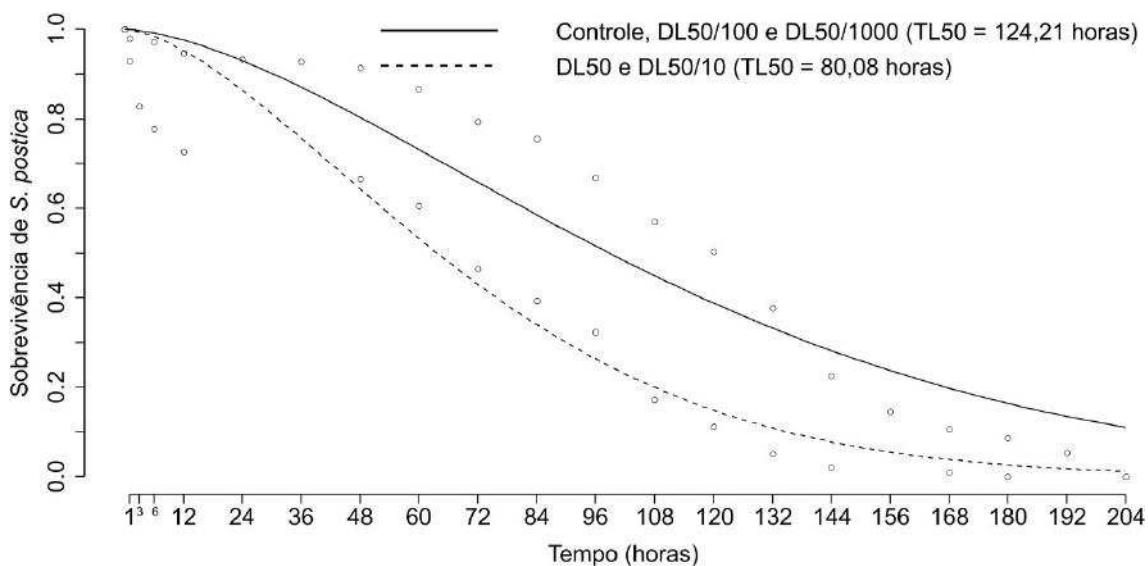
A menor expectativa de vida foi obtida para as abelhas tratadas com a DL50, apresentando sobrevivência média de 1 dia e 3 horas (27.29 horas), ou seja, 2.93 vezes inferior àquela obtida para as abelhas intoxicadas com a DL50 do dimetoato, que em termos de toxicidade aguda foi de 17.82 vezes mais tóxico que esse neonicotinoide (Figura 4 e Tabela 1). Por outro lado, a mortalidade do último indivíduo com a intoxicação com acetamiprido, foi após 11 dias (264 horas).

Dimetoato

Com o estabelecimento das doses subletais e realistas, ou seja, próximas aquelas encontradas nas áreas onde são utilizados os produtos fitossanitários avaliados, os ensaios de sobrevivência de *S. postica* foram determinados. Para o dimetoato, a morte

do último indivíduo utilizado no experimento ocorreu no 8º dia (204 horas). Naqueles experimentos em que as abelhas foram tratadas com a dose da DL50 e de $1/10$ da DL50, não houve diferença significativa entre elas e o tempo letal 50 estimado para esse grupo foi de 3 dias e meio (80.08 horas) (Figura 4).

Figura 4. Sobrevivência de *Scaptotrigona postica* após a intoxicação tópica com diferentes doses do dimetoato. Controle = acetona; DL50 = 9.71 ng i.a./abelha; DL50/10 = 0.971 ng i.a./abelha; DL50/100 = 0.0971 ng i.a./abelha; DL50/1000 = 0.00971 ng i.a./abelha.



No caso das doses equivalentes a $1/100$ e $1/1000$ da DL50, incluindo o tratamento controle, verificou-se que não existe diferença entre si, portanto, formaram um grupo com sobrevivência média na ordem de 5 dias e 4 horas (124.21 horas) (Figura 4). É importante salientar que esses resultados validam o procedimento de escolha das doses empregadas durante os ensaios, classificando-as como subletais.

Tabela 1 - Parâmetros de ajuste obtidos para os modelos (log-logístico) de determinação da toxicidade aguda (DL50) do acetamiprido e dimetoato para *Scaptotrigona postica*.

| Insecticida | Tempo | DL50 ^a | IC95% ^b | DL50 ^{c*} | IC95% ^{d*} | χ^2 ^e | Df ^f | DL50/10 ^g | DL50/100 ^g | DL50/1000 ^g |
|-------------------------|-------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-----------------------|-----------------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| Acetamiprido (98.0%) | 24h | 173,04 | 102,01-244,07 | 0,0118 | 0,0069-0,017 | 4,7326 | 16 | 17,304 | 1,7304 | 0,17304 |
| | 48h | 105,63 | 61,82-149,43 | 0,0072 | 0,0042-0,0102 | 4,0332 | 16 | - | - | - |
| | 72h | 58,71 | 35,75-84,66 | 0,0040 | 0,0024-0,0058 | 5,6569 | 16 | - | - | - |
| Dimetoato (99.0%) | 24h | 9,71 | 6,45-12,96 | 0,00066 | 0,00044-0,00088 | 6,6686 | 18 | 0,971 | 0,0971 | 0,00971 |
| | 48h | 2,50 | 1,41-3,59 | 0,00017 | 0,00017-0,00024 | 16,576 | 18 | - | - | - |
| | 72h | 0,59 | 0,38-0,80 | 0,00004 | 0,00003-0,00005 | 22,898 | 16 | - | - | - |

^a DL50 em ng i.a./abelha

^b Intervalo de confiança 95% - em ng i.a./abelhas

^c DL50 em µg i.a./mg massa corpórea

^d Intervalo de confiança 95% - em µg i.a./mg massa corpórea

^e Qui-quadrado do modelo

^f Graus de liberdade

^g Doses determinadas a partir da DL50 - em ng i.a./abelha

*massa corporal média da abelha: 14,68 mg (n=100)

DISCUSSÃO

A importância de avaliar a toxicidade desses produtos fitossanitários em abelhas nativas no Brasil encontra-se fundamentalmente em que a maioria dos produtos disponíveis no mercado apresentam risco ambiental e são amplamente utilizados em culturas visitadas por polinizadores. Por exemplo, dimetoato e acetamiprido são utilizados no tratamento de espécies vegetais dependentes e/ou beneficiadas pelo serviço de polinização, como algodão, café, citros, maçã, melancia, melão, tomate, soja, entre outros (BRASIL, 2016).

Os dados da DL50 de acetamiprido (173.04 ng i.a./abelha) e dimetoato (9.71 ng i.a./abelha) em 24 horas, confirmam a classificação determinada por Atkins, Kellum e Atkins (1981), onde o dimetoato é considerado altamente tóxico e o acetamiprido levemente tóxico. Existem poucos trabalhos relacionados à toxicidade aguda de produtos fitossanitários para a espécie nativa sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804. Soares et al. (2012), encontraram resultados da DL50 tópica do imidaclorrido na ordem de 25.20 ng i.a/abelha (24 horas) e de 24.46 ng i.a/abelha em 48 horas, concluindo que esse neonicotinoide é tóxico para as abelhas sem ferrão, mesmo quando for administrado por ingestão ou tópica. Em outro estudo para determinação de toxicidade aguda com *S. postica*, Jacob et al. (2012) avaliaram o efeito do inseticida fipronil constatando 0.54 ng i.a./abelha (tópica) após 24 horas da exposição. Essa pesquisa comprovou que as abelhas são mais sensíveis à intoxicação quando o inseticida fipronil é administrado por ingestão, com dados de DL50 na ordem de 0.24 ng i.a. / μ L de dieta.

Ao se comparar esses resultados, foi possível observar que o acetamiprido é o produto fitossanitário menos tóxico para a abelha nativa *S. postica*, levando-se em consideração testes de toxicidade aguda (DL50), conforme tem sido observado de modo semelhante para *A. mellifera* e é justificada pelas alterações na forma estrutural das moléculas dos inseticidas do grupo dos neonicotinoides, o que reflete em diferentes afinidades aos receptores substitutos da acetilcolina (IWASA et al., 2004). O dimetoato é um dos produtos fitossanitários mais tóxicos que se tem conhecimento, sendo inferior ao que foi encontrado por Jacob et al. (2012) em avaliação de fipronil em *S. postica*.

Pode-se utilizar os resultados de toxicidade aguda dos inseticidas dimetoato e acetamiprido encontrados *S. postica* para comparar com os resultados até então relatados com a principal espécie de abelha estudada (*A. mellifera*). Estudos realizados

por Iwasa et al. (2004) constaram uma DL50 de acetamiprido para *A. mellifera* de 0.0707 µg i.a./mg de massa corpórea (24 horas), e que comparando-se em relação ao peso e o valor de DL50 encontrada para *S. postica* (0.0118 µg i.a. / mg de massa corpórea) representaria uma relação de somente 0,16 vezes, ou seja, obtendo valores semelhantes que não caracterizaria diferença entre elas (Tabela 1). O mesmo foi observado com o dimetoato para essas duas espécies de abelhas, sendo que nesse caso a diferença é de 0,40 vezes entre as DL50 observadas para *A. mellifera* (DL50 = 0.00162 µg i.a./ mg massa corpórea) e *S. postica* (DL50 = 0.00066 µg i.a./ mg massa corpórea) (HARDSTONE; SCOTT, 2010) (Tabela 1).

Outro ponto importante a ser considerado em estudos de avaliação de risco, é a propriedade sistêmica das moléculas e o risco de intoxicação de recursos explorados pelas abelhas. Como mencionado, estudos quantificaram os resíduos de ambos os produtos fitossanitários presentes em diversas espécies vegetais e em níveis que podem causar risco as abelhas, demonstrando a necessidade de aprofundamento dos estudos toxicológicos considerando aspectos comportamentais e fisiológicos (BARKER, LEHNER; KUNZMANN, 1980; BLACQUIERE et al., 2012; MULLIN et al., 2010; PETTIS et al., 2013; WALLER et al., 1984;). Estudos conduzidos com o neonicotinoide imidaclorrido, comprovaram que esse composto é encontrado no pólen e no néctar das plantas, aumentando as rotas de exposição das abelhas, tanto pelo tegumento quanto pela ingestão (RORTAIS et al., 2005).

Para o dimetoato, estudos também comprovaram resíduos em quantidades elevadas em néctar e pólen de plantas de alfafa e citros de até 3 ppm, o que muito se aproxima da equivalente a DL50 para *A. mellifera* e *S. postica*. (BARKER; LEHNER; KUNZMANN, 1980; WALLER; BARKER; MARTIM, 1979). Tem-se que mesmo se em alguns casos as quantidades encontradas estejam em faixas consideradas não letais (ou subcrônicas), em poucos dias de exploração desses recursos, é possível inferir que as abelhas podem adquirir quantidades equivalente a DL50, apresentando dessa maneira efeito latente e temporal (GOULSON et al., 2015).

Ao se comparar os resultados obtidos na toxicidade aguda (DL50) e nos testes de sobrevivência, observou-se uma inversão de periculosidade. Apesar de acetamiprido ser considerado um inseticida levemente tóxico para espécies polinizadoras (ATKINS; KELLUM; ATKINS, 1981), a dose que mata 50% dos seus indivíduos tem uma taxa de sobrevivência menor (27.24 horas) se comparado aos resultados obtidos na

sobrevivência dos indivíduos contaminados com a DL₅₀ do dimetoato (80.08 horas) (Tabela 1).

Sabe-se que existe uma variabilidade genética, de sensibilidade, climática e geográfica entre colônia e entre espécies. É necessário avaliar outras colônias de *S. postica* para se conhecer a sobrevivência ao entrar em contato com acetamiprido para aumentar a validade dos resultados obtidos. Essa toxicidade diferencial pode ser explicada em função de doses baixas não induzirem os sistemas de desintoxicação ou pela existência de sítios de ligação de alta e baixa afinidade para o composto tóxico (BRUNET; BADIOU; BELZUNCES, 2005; SUCHAIL et al., 2004).

Os resultados encontrados nessa pesquisa foram semelhantes àqueles encontrados por Brunet, Badiou e Belzunces (2005), onde o principal objetivo foi traçar a distribuição do acetamiprido no corpo da abelha *A. mellifera*. Com o estudo, foi possível observar que após a exposição oral, a semi-vida da abelha contaminada por acetamiprido aos 25 min foi menor do que a encontrada com a contaminação por imidacloprido, que variou de 4 a 5 horas.

Apesar de estudos atestarem a baixa toxicidade de metabólitos de acetamiprido (BRUNET; BADIOU; BELZUNCES, 2005; IWASA et al., 2004), a persistência desses compostos no organismo (após 72 h de exposição), podem afetar indiretamente outros mecanismos que aumentam o risco de toxicidade para as abelhas (BRUNET; BADIOU; BELZUNCES, 2005; VAN DER OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003), o que de fato poderia explicar em parte os resultados nos ensaios de sobrevivência obtidos após a intoxicação com de acetamiprido. Adicionalmente, sugere-se que estudos que avaliem a absorção e distribuição desses inseticidas em abelhas nativas sejam encorajados, como por exemplo, para *S.postica*.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos após as análises realizadas nesse estudo foi possível constatar que o Acetamiprido e o Dimetoato são considerados produtos fitossanitários com um risco considerável para *Scaptotrigona postica* Latreille, 1804 demonstrando uma atenção especial a utilização indiscriminada desses produtos e seus possíveis efeitos nos insetos polinizadores. Também foi possível constatar a necessidade de realizar outros estudos comportamentais e fisiológicos para confirmar os dados encontrados na sobrevivência, principalmente do ingrediente ativo acetamiprido.

REFERÊNCIAS

- AFPP: The Association for Perioperative Practice. **Méthode d'évaluation des effets de toxicité aiguë et à court terme des préparations phytopharmaceutiques sur l'abeille domestique *Apis mellifera L.*** Commission des Essais Biologiques, North Yorkshire, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Produção e Abastecimento. **AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 22 mar. 2016.
- ALIOUANE, Y; ADESSALAM, K.; HASSANI, A. K.; GARY, V.; ARMENGAUS, C.; LAMBIM, M.; GAUTHIER, M. Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effect on behaviour. **Environmental Toxicology Chemistry**, Michigan, v.1, p.113-121, 2009.
- ATKINS, E. L.; KELLUM, D.; ATKINS, K. W. **Reducing pesticides hazards to honey bees**: mortality prediction techniques and integrated management strategies. University of California, San Francisco, 1981.
- BARKER, R. J; LEHNER, Y; KUNZMANN, M. R. Pesticides and honey bees: Nectar and pollen contamination in alfalfa treated with dimethoate. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 9, n.2, p. 125-133, 1980.
- BLACQUIERE, T; SMAGGHE, G; VAN GESTEL, C. A. M; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, [s.l], v. 21, n.4, p. 973-992, 2012.
- BRUNET, J. L.; BADIOU, A.; BELZUNCES, L. P. *In vivo* metabolic fate of [14C]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *Apis mellifera L.* **Pest Management Science**, Malden, v.61, n.8, p.742-748, 2005.
- CELLI, G; MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v.56, n.1, p.137-139, 2003.
- CHAUZAT, M. P; CARPENTIER, P; MARTEL, A. C; BOUGEARD, S; PORTA, P; LACHAIZE, J; MADEC, F; AUBERT, M; FAUCON, J. P. Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. **Environmental Entomology**, Oxford, v.38, n.3, p.514-523, 2009.
- DECOURTYE, A. **Etude de l'impact des produits phytopharmaceutiques sur la survie et l'apprentissage associatif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera L.*)**. 2002. Thesis (PhD) - University Paris, Paris, 2002.
- DECOURTYE, A; DEVILLERS, J. Chapter: Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: Insect nicotinic acetylcholine receptors. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [s.l], v.683, p.85-95, 2010.

DESNEUX, N; DECOURTYE, A; DELPUECH, J. M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.52, p.81-106, 2007.

DEVILLERS, J; PHAM-DELÈGUE, M. H. Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals, Washington, DC: **Library of Congress**, 2002.

EL HASSANI, A. K; DACHER, M; GAUTHIER, M; ARMENGAUD, C. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s.l], v.89, n.1, p.9-30, 2005.

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

GOUGH, H. J; McINDOE, E. C; LEWIS, G. B. The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. **Journal of Apicultural Research**, London, v.33, p.119-125, 1994.

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

HARDSTONE, M. C; SCOTT, J. G. Is *Apis mellifera* more sensitive to insecticides than other insects?. **Pest Management Science**, Malden, v.66, p.1171-1180, 2010.

IWASA, T. MOTOYAMA, N; AMBROSE, J. T; ROE, R. M. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. **Crop protection**, Queensland, v.23, p.371-378, 2004.

JACOB, C. R. O; SOARES, H. M; CARVALHO, S. M; NOCELLI, R. C. F; MALASPINA, O. Acute Toxicity of Fipronil to the Stingless Bee *Scaptotrigona postica* Latreille. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.90, p.69-72, 2012.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A. T.; MAIA, U. M.; BLOCHSTEIN, B.; CARVALHO, C. A. L.; CARVALHO-ZILSE, G. A.; FREITAS, B. M.; MENEZES, C.; RIVIEIRO, M. F.; VENTURIERI, G. C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PLOS ONE**, [s.l], v.10, p.21, 2015.

KLEIN, A. M; DEWENTER, I. S; TSCHARNTKE, T. Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. **Proceedings of The Royal Society**, London, v.270, p.955-961, 2003.

MAINI, S; MEDRZYCKI, P; PORRINI, C. The puzzle of honey bee losses: a brief review. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v.63, p.153-160, 2010.

MATSUDA, M; TAKAHASHI, H. Mospilan (acetamiprid, NI-25)- a new systemic insecticide. **Agrochemicals Japan**, 1996.

MEDRZYCKI, P; GIFFARD, H; AUPINEL, P; BELZUNCES, L. P; CHAUZAT, M. P; CLABEN, C; COLIN, M. E; DUPONT, T; GIROLAMI, V; JOHNSON, R; CONTE, Y. L; LUCKMANN, J; MARZARO, M; PISTORIUS, J; PORRINI, C; SCHUR, A; SGOLASTRA, F; DELSO, N.S; STEEN, J. J. M van der; WALLNER, K; ALAUX, C; BIRON, D. G; BLOT, N; BOGO, G; BRUNET, J. L; DELBAC, F; DIOGON, M; ALAOUI, H. E; PROVOST, B; TOSI, S; VIADAU, C. Standard methods for toxicology research in *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, London, v.52, p.1-60, 2013.

MIRAJKAR, N; POPE, C. N. Dimethoate. In: **Encyclopedia of Toxicology**, United States National Library of Medicine, Bethesda, 2005.

MULLIN, C.A; FRAZIER, M; FRAZIER, J.L; ASHCRAFT, S; SIMONDS, R; VanENGELSDORP, D; PETTIS, J.S. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **PLOS ONE**, [s.l], v.5, p.1-19, 2010.

OECD. **Organisation For Economic Co-Operation and Development**, 1998.

PETTIS, J.S; DEPAPLANE, K.S. Coordinated responses to honey bee decline in the USA. **Apidologie**, Versailles, v.41, n., p.1-8, 2010.

POTTS, S.G. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. **Journal of Apicultural Research**, London, v.49, p.15-22, 2010.

RITZ, C; BATY, F; STREIBIG, J.C; GERHARD, D. Dose-Response Analysis Using R. **PLOS ONE**, [s.l], p.1-13, 2015.

RORTAIS, A; ARNOLD, G; HALM, M.P; TOUFFET-BRIENS, F. Modes of honey bees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie**, Versailles, v.36, p.71-83, 2005.

ROUBIK, D.W. **Pollinator safety in agriculture**. Rome: FAO, 2014.

SCOY, A.V; PENNEL, A; ZHANG, X. Environmental Fate and Toxicology of Dimethoate. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v.237, p.53-70, 2016.

SOARES, H.M. **Avaliação dos efeitos do inseticida imidaclorprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

SPARKS, T.C.; NAUEN, R. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.121, p.122-128, 2015.

SUCHAIL, S; GUEZ, D; BELZUNCES, L.P. Discrepancy between acute and chronic toxicity induces by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. **Environmental Toxicology Chemistry**, [s.l], 2001.

SUCHAIL, S; SOUSA, G; RAHMANI, R; BELZUNCES, L.P. In vivo distribution and metasolisation of C-14-imidacloprid in different compartments of *Apis mellifera* L. **Pest Management Science**, Sussex, 2004.

THERNEAU, M.T. **Package Survival**. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/survival/survival.pdf>>. 2016. Acesso em: 03 jan. 2016.

TOMIZAWA, M; YAMAMOTO, I. Structure-activity relationships of nicotinoids and imidacloprid analos. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, 1993.

UNITED STATES. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US.EPA). **Guidance on Use of Modeled Results to Demonstrate Attainment of the Ozone**, Washington DC, 1996.

VAN DER OOST, R; BEYER, J; VERMEULEN, N.P. Fish Bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology of Pharmacology**, v.13, p.57-149, 2003

WALLER, G.D; BARKER, R.J; MARTIN, J.H. Effects of dimethoate on honey bee foraging. **Chemosphere**, Oxford, v.8, p.461-463, 1979.

WALLER, G.D; ERICKSON, B.J; HARVEY, J; MARTIM, J.H. Effects of dimethoate on honey bees (Hymenoptera: Apidae) when applied to flowering lemons. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.77, p.70-74, 1984.