



**I WORKSHOP DE HORTICULTURA NO SEMIÁRIDO
& VIII SEMANA DE AGRONOMIA
02 a 06 de setembro de 2024**

**Toxicidade oral de *Bacillus thuringiensis* sobre adultos de *Apis mellifera*
(Hymenoptera: Apidae)**

Tais Fernandes da CONCEIÇÃO¹; Emanuely Karoliny Santos da SILVA¹; Ewerton Marinho da COSTA¹;
Anderson Bruno Anacleto de ANDRADE¹; Tiago Augusto Lima CARDOSO¹; Brenda Carla Rosendo
MARTINS¹

I Workshop de Horticultura no semiárido & VIII Semana de Agronomia

¹Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil
taisfernandes328@gmail.com

RESUMO: Diante o declínio das abelhas *Apis mellifera* pelo uso inadequado de inseticidas, a utilização de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* vem ganhando destaque. Portanto, objetivou-se avaliar a toxicidade oral de *B. thuringiensis* via ingestão, sobre adultos de *A. mellifera* e os possíveis efeitos desse biopesticida na sobrevivência das abelhas. O experimento foi conduzido sob condições de laboratório em delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos: Testemunha absoluta – água destilada; Testemunha positiva – Tiametoxam (0,30 g/i.a. L⁻¹); e quatro doses de *B. thuringiensis* (0,01008; 0,0336; 0,0504; e 0,0672 g/i.a. L⁻¹). Foram avaliadas a mortalidade a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 24 horas após o início da exposição. As doses testadas não diferiram entre si, e ocasionaram a morte de 1%, 2%, 3% e 5% das abelhas da menor para maior dose, respectivamente. Quanto à taxa de sobrevivência, foi observado lenta mortalidade, com TL₅₀ de 740,9 h. Assim, o produto avaliado apresentou pouca toxicidade sobre *A. mellifera*.

PALAVRAS-CHAVE: Polinizadores; entomopatógeno; seletividade.

INTRODUÇÃO

No cultivo de culturas de alto valor econômico como o melão (*Cucumis melo*), melancia (*Citrullus lanatus*) e abóbora (*Cucurbita maxima*) dentre as estratégias de manejo, na época de floração ocorre a inserção de colônias de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), visando potencializar a polinização dessas espécies por esses insetos polinizadores e otimizar a produção, obtendo frutos com maior tamanho, peso e número de sementes (KLEIN et al., 2020).

Entretanto, vem sendo observado um declínio populacional de *A. mellifera*, especialmente em áreas agrícolas, o qual está relacionado a fatores como: plantio de extensas áreas com monocultivos, alterações do habitat natural, desmatamento, redução da oferta de alimento e uso indiscriminado de inseticidas sintéticos nas plantações, sendo este último o principal fator apontado para o declínio dos polinizadores e perdas das colônias (KEARNS; INOUE, 1997; DEVINE; FURLONG, 2007; GENERSCH, 2010; PEREIRA et al., 2019).

Assim, é importante a utilização de outros métodos de controle de pragas agrícolas além dos inseticidas sintéticos, como o controle biológico. Dentre os produtos biológicos disponíveis no mercado, destacam-se aqueles à base de *Bacillus thuringiensis*, que é uma bactéria patogênica, caracterizada por formar proteínas cristais durante sua esporulação e que possui ação inseticida no trato digestivo dos insetos. Ressalta-se que dentre as premissas dessa tecnologia está a alta especificidade e seletividade a organismos não-alvo (GLARE; O'CALLAGHAM 2000, ANGELO et al., 2010).

Entretanto, Brighenti et al. (2007), avaliando os efeitos da ingestão de dieta contaminada com *B. thuringiensis* subespécie *kurstaki* sobre *A. mellifera*, observaram mortalidade em até 100% das abelhas. Desse modo, é importante realizar novas pesquisas para avaliar se *B. thuringiensis* promove seletividade para *A. mellifera*, utilizando diferentes doses. Assim, objetiva-se avaliar a toxicidade oral de *B. thuringiensis* sobre adultos de *A. mellifera* após a ingestão de dieta contaminada e os impactos desse biopesticida na sobrevivência das abelhas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias (UAGRA), localizada no Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal, Paraíba, Brasil. Para a condução do experimento foram utilizadas operárias adultas da abelha africanizada provenientes de colônias pertencentes ao apiário da UAGRA/CCTA/UFCG, que estão instaladas em caixas de madeira do tipo Langstroth.

O produto avaliado foi o DIPEL[®], formulado à base de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki, linhagem HD-1, em quatro doses registradas para uso no controle de pragas no Brasil, abrangendo o intervalo entre a menor e a maior dose registrada pelo fabricante (AGROFIT, 2024). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, constituído por seis tratamentos [doses 0,01008; 0,0336; 0,0504; e 0,0672 g/i.a. L⁻¹ de *B. thuringiensis*; testemunha absoluta (água destilada) e testemunha positiva, o inseticida Tiametoxam na dose máxima registrada para uso em meloeiro (0,30 g i.a. L⁻¹)] e 10 repetições, sendo cada unidade experimental formada por 10 abelhas operárias adultas.

Para avaliar o efeito do biopesticida na sobrevivência de *A. mellifera* foi realizado bioensaio, correspondente ao modo de exposição por ingestão de dieta contaminada, seguindo a metodologia utilizada por Costa et al. (2014). Salienta-se que para facilitar o manuseio durante a preparação do bioensaio, as abelhas foram previamente anestesiadas com o uso do frio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$ durante 90 segundos).

Para avaliar a toxicidade, foram utilizadas como arenas (para confinamento das abelhas) recipientes plásticos com 15 cm de diâmetro por 15 cm de altura, com a extremidade superior parcialmente coberta com tela antiáfideo e laterais com aberturas de aproximadamente 0,1 cm (para possibilitar a adequada circulação de ar no ambiente). Posteriormente, foi preparada a pasta cândi e em sequência os tratamentos foram pulverizados sobre a dieta com o auxílio de um pulverizador manual. As abelhas foram distribuídas nas arenas, e o alimento contaminado foi inserido no recipiente, juntamente com um algodão umedecido com água destilada. Depois disso, as abelhas foram monitoradas para a confirmação da ingestão do alimento.

Após a confirmação que ocorreu a alimentação, foi iniciada a avaliação da mortalidade e o comportamento das abelhas a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 24 horas após exposição. Foram registradas como mortas as abelhas que não responderam a estímulos mecânicos.

As porcentagens de mortalidade foram calculadas para cada tratamento e corrigidas usando a equação de Abbott (1925), posteriormente foi aplicada uma Análise de Variância com Permutação (PERMANOVA) seguida da comparação múltipla de Wilcoxon. A sobrevivência dos adultos foi analisada durante o tempo e ajustando-se os dados à distribuição de Weibull através do pacote Survival (THERNEAU; LUMLEY, 2010). Tratamentos com efeitos similares (toxicidade e velocidade de mortalidade) foram agrupados através de contrastes. O tempo letal mediano (TL₅₀) foi calculado para cada agrupamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que independente da dose utilizada, o biopesticida *B. thuringiensis* foi pouco tóxico sobre *A. mellifera*, ocasionando a morte de 1%, 2%, 3% e 5% das abelhas da menor para maior dose, respectivamente. Desse modo, as doses avaliadas provocaram baixa mortalidade, não diferindo entre si. Salienta-se que as doses testadas diferiram estatisticamente da testemunha positiva (Tiametoxam), que provocou a morte de aproximadamente 100% das abelhas nas 24 horas de observação (Figura 1).

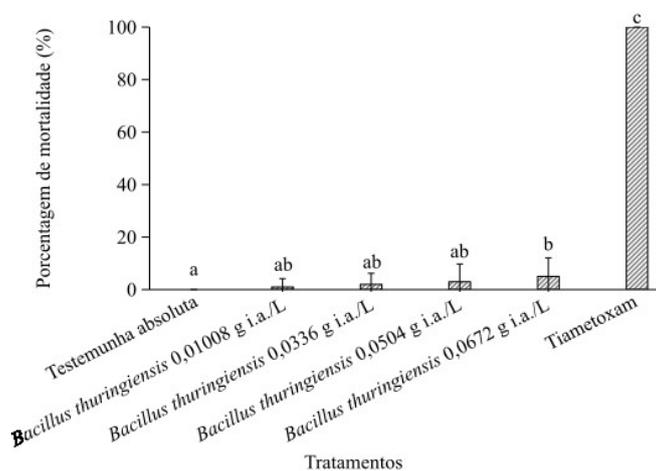


Figura 1. Mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada com o biopesticida *Bacillus thuringiensis*, Pombal, 2024. *Mortalidade corrigida pela equação de Abbott (1925). Sobre as barras, letras diferentes representam diferenças significativas de acordo com o teste de Wilcoxon com nível de significância de 5%.

A análise de sobrevivência, representa a mortalidade das abelhas durante o tempo de exposição ao produto. Desse modo, independente da dose do biopesticida *B. thuringiensis*, foi observado tempo letal mediano (TL₅₀) de 740,9 horas, sendo este valor muito superior quando comparado com a testemunha positiva (Tiametoxam), que proporcionou TL₅₀ de 5,8 horas, ou seja, o biopesticida além de ocasionar baixa mortalidade, não ocasiona rápida letalidade.

Estudos mostram que a bactéria *B. thuringiensis* é um microrganismo que atua por ingestão, ocasionando a mortalidade, em média, 48 horas após ingestão em diferentes insetos (MENDONÇA, 2002; CARVALHO et al. 2002; BRIGHENTI et al., 2007), todavia no presente trabalho não foi observado este efeito, afinal as abelhas que foram expostas a bactéria *B. thuringiensis*, cerca de 93,25% estavam vivas, após 24 horas de observação. O período de exposição do produto sobre as abelhas, também pode ter interferido nos resultados obtidos. O tempo de ação de *B. thuringiensis* no sistema digestivo dos insetos, atua em um período de 24 a 48 horas, após o início da exposição. Assim, o presente trabalho buscou avaliar o tempo mínimo de 24 horas, com o intuito de aproximar a realidade de aplicações realizadas em campo. Após esse período de observação, foi constatado baixa mortalidade e longa longevidade das abelhas.

CONCLUSÕES

O produto comercial formulado à base de *B. thuringiensis* apresentou pouca toxicidade sobre *A. mellifera* e não interferiu na sobrevivência, independente da dose utilizada, após 24 horas de exposição.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, Riverside, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 05 Mai. 2024.
- ANGELO, E. A.; VILAS-BÔAS, G. T.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H. *Bacillus thuringiensis*: características gerais e fermentação. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 4, p.945-958, 2010.
- BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; CARVALHO, G. A.; BRIGHENTI, C. R.; CARVALHO, S. M. Bioatividade do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 31, n. 2, p. 279- 289. 2007.
- CARVALHO, E. M.; CARVALHO, S. M.; CARVALHO, C. F.; CARVALHO, G. A.; SOUZA, B. Impacto de inseticidas fornecidos a adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) por meio de pasta Cândi contaminada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 14., 2002, Campo Grande. Anais... Campo Grande: CBA, 2002. p. 114.
- COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MAIA, A. V. P.; SILVA, F. E. L.; BEZERRA, C. E. S.; SILVA, J. G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. *Apidologie*, v. 45, n. 1, p. 34-44, 2014.
- DEVINE, G. R. J.; FURLONG, M, J. Insecticide use: contexts and ecological consequences. *Agricultural and Human Values*, v.24, p.281- 306, 2007.
- GENERSCH, E. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 87, n. 1, p. 87-97, 2010.
- GLARE, T. R.; O' CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis* biology, ecology and safety. Chichester, United Kingdom, p. 350, 2000.

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

KLEIN, A. M.; FREITAS, B. M.; BOMFIM, G. A.; BOREUX, V.; FORNOFF, F.; OLIVEIRA, M. O. A. Polinização Agrícola por Insetos no Brasil. Maranguape, Uni-freiburg. 2020.

MENDONÇA, P. C. Caracterização e sequenciamento dos plasmídeos pMC1 e pMC2 de *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* isolado T01 328. 2002. 53p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Genética Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

PEREIRA, L. H.; BARBOSA, F. K. N.; OLIVEIRA, F. M.; CALDAS, F. R. L.; NASCIMENTO, P. S. S. Efeitos do uso de pesticidas nas abelhas: revisão sistemática em bases de dados científicas. *Brazilian Journal of Development*, v. 5, n. 12, p. 32821-32833, 2019.

THERNEAU, T.; LUMLEY, T. survival: Survival analysis, including penalised likelihood. R package version, v. 2, p. 36-2, 2010. Disponível em: <<http://cran.r-project.org/package=survival>>. Acesso em: 14 fev. 2022.