



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

**Efeitos subletais 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; Márcia Lorena Rodrigues
COSTA¹

I Workshop de Horticultura no semiárido & VIII Semana de Agronomia

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

RESUMO: O uso intensivo de inseticidas tem contribuído para o declínio de polinizadores em áreas agrícolas, sendo imprescindível conhecer os efeitos desses produtos sobre os insetos benéficos. Portanto, objetivou-se avaliar os efeitos subletais de um biopesticida à base *B. thuringiensis* via ingestão, sobre o comportamento e capacidade de voo de abelhas adultos de *A. mellifera*. 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 avaliados os efeitos sobre o comportamento das abelhas a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 24 horas após o início da exposição e a capacidade de voo com as abelhas que sobreviveram após as 24 horas de exposição. As doses testadas não ocasionaram alterações comportamentais aparentes, bem como não provocaram distúrbios motores e comprometimento da capacidade de voo das abelhas após a exposição. Assim, o produto avaliado não interferiu no comportamento e capacidade de voo, independente da dose utilizada.

PALAVRAS-CHAVE: polinizadores; entomopatógeno; capacidade de voo.

INTRODUÇÃO

As abelhas executam importantes atividades que beneficiam a humanidade, como a polinização, no qual favorecem a agricultura, garantindo produções de frutos e grãos, além da produção de mel, geleia real, cera, própolis, pólen e apitoxina (RAMOS; CARVALHO, 2007). A ausência desses agentes polinizadores nas áreas de produção agrícola, além de acarretar baixa produtividade, podem provocar falta de padronização quanto a forma, aspecto, sabor, tamanho e formato, gerando problemas no rendimento e no lucro para o produtor (COBRA et al., 2015).

Contudo, uma interação de múltiplos fatores está ocasionando a redução populacional das abelhas em escala global, sendo o uso de inseticidas apontado como uma das principais causas do aumento da mortalidade e das perdas de colônias (GENERSCH, 2010; PEREIRA et al., 2019). As abelhas são expostas aos inseticidas sintéticos, naturais ou biológicos de três maneiras distintas: a) contato com as gotículas de pulverização; b) contato com resíduos nas plantas; e c) ingestão de alimento contaminado (COSTA et al., 2014; CHAM et al., 2017; HEARD et al., 2017). Desse modo, a exposição de *A. mellifera* aos inseticidas pode provocar a morte e efeitos subletais como perda de memória, distúrbios motores e comportamentais, prejudicando principalmente a capacidade de voo e reduzindo o potencial de forrageamento (WU-SMART; SPIVAK, 2016; GOMES et al., 2020).

Dentre os produtos biológicos com efeito inseticida disponíveis no mercado, destacam-se aqueles à base de *Bacillus thuringiensis*, que é uma bactéria patogênica, caracterizada por formar proteínas cristais durante sua esporulação. Essa tecnologia vem sendo utilizada em várias culturas de importância agrícola, para o manejo de lagartas, como: traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*), lagarta-helicoverpa (*Helicoverpa armigera*) e broca-das-curcubitáceas (*Diaphania hyalinata*) (AGROFIT, 2024). Apesar de *B. thuringiensis* apresentar seletividade e alta especificidade (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000), faz-se necessário conhecer métodos adequados de aplicação sobre organismos não alvos, pois os mesmos podem atingir esses insetos e ocasionar a morte. Afinal, durante a coleta de pólen, néctar e água, as abelhas percorrem diferentes ambientes, muitas

partículas como fungos e bactérias podem se aderir ao corpo e serem ingeridas por esses insetos, o que possibilita a contaminação delas e de outras abelhas na colônia (RIBEIRO, 2010).

Desse modo, é importante realizar pesquisas para avaliar se *B. thuringiensis* causa efeitos subletais como distúrbios motores e redução da capacidade de voo de *A. mellifera*, utilizando diferentes doses. Assim, objetivou-se avaliar o comportamento e capacidade de voo de *A. mellifera* após ingestão de dieta contaminada com *B. thuringiensis*.

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 (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 em *A. mellifera* foi realizado bioensaio, correspondente ao modo de exposição por ingestão de dieta contaminada, seguindo a metodologia utilizada por Costa et al. (2014). A capacidade de voo foi avaliada com todas as abelhas que sobreviveram após o período de exposição ao biopesticida, utilizando a metodologia de Gomes et al. (2020).

Para avaliar o efeito do bioinseticida, previamente, as abelhas foram isoladas por 2 horas sem contato com alimento. 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 posteriormente 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 do comportamento das abelhas a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 e 24 horas após exposição. Foram observadas as seguintes características de comportamento: perda de agilidade, abelhas caminhando lentamente, paralisia geral, alteração no hábito de limpeza e agregação.

A capacidade de voo foi avaliada para todas as abelhas que sobreviveram após as 24 horas de exposição. A avaliação foi realizada em sala escura, com auxílio de uma torre de voo contendo uma fonte luminosa no topo (com o objetivo de atrair as abelhas pelo fototropismo positivo). A torre de voo foi constituída de um aparato de madeira (35 × 35 × 115 cm de altura), aberto em seu interior, com as laterais revestidas por plástico transparente, fita métrica fixada na extremidade lateral da parte frontal e com uma lâmpada fluorescente no topo. A torre de voo apresenta cinco níveis de altura: nível 1 (base da torre – 0 cm), nível 2 (de 1 cm a 30 cm de altura), nível 3 (de 31 cm a 60 cm de altura), nível 4 (de 61 cm a 90 cm de altura) e nível 5 (de 91 cm até 115 cm, local da lâmpada). As abelhas que sobreviveram foram colocadas individualmente na base da torre (altura 0 cm), sendo permitido um período de 60 segundos para a conclusão do voo, registrando-se ao final do tempo a altura que abelha atingiu.

O efeito dos tratamentos sobre a capacidade de voo foi investigado utilizando-se PERMANOVA seguida do teste de Wilcoxon. Todas as análises foram realizadas utilizando o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação as alterações de comportamento das abelhas, foi possível observar que durante as avaliações as abelhas expostas ao biopesticida demonstraram hábito de limpeza, perda de agilidade e comportamento de fuga, aglomerando-se nas laterais e na parte superior da arena. Em relação a exposição da

testemunha positiva, as abelhas apresentaram redução na mobilidade, tremores e paralisia antes da morte, ficando evidente a diferença quando comparado aos outros tratamentos. Afinal, após a exposição ao inseticida (Tiametoxam) as abelhas ficaram rapidamente debilitadas, sendo observado maior número de mortes na primeira hora de avaliação. Além disso, após o contato com o produto as abelhas tiveram redução na mobilidade, afinal o produto atua no intestino médio do inseto ocasionando aumento no volume do abdome, devido a expansão das células antes da ruptura.

Na avaliação da capacidade de voo, foram utilizadas as abelhas da testemunha absoluta e as provenientes da exposição ao biopesticida *B. thuringiensis*, haja vista que, não houve sobreviventes na testemunha positiva. Sobreviveram 465 abelhas, no qual não foi observado comprometimento da capacidade de voo após as 24 horas de observação, pois cerca de 43,01% dos indivíduos alcançaram a altura máxima (91-115 cm), enquanto que 42,79% variaram a altitude entre 1 e 90 cm e apenas 14,19% permaneceram na base da torre (0cm), sem apresentarem distúrbios motores. Vale salientar, que na altura máxima ocorreu diferença significativa entre a testemunha absoluta e dose 2 em relação a dose 1, uma vez que a dose 1 apresentou menor número de indivíduos (Figura 1).

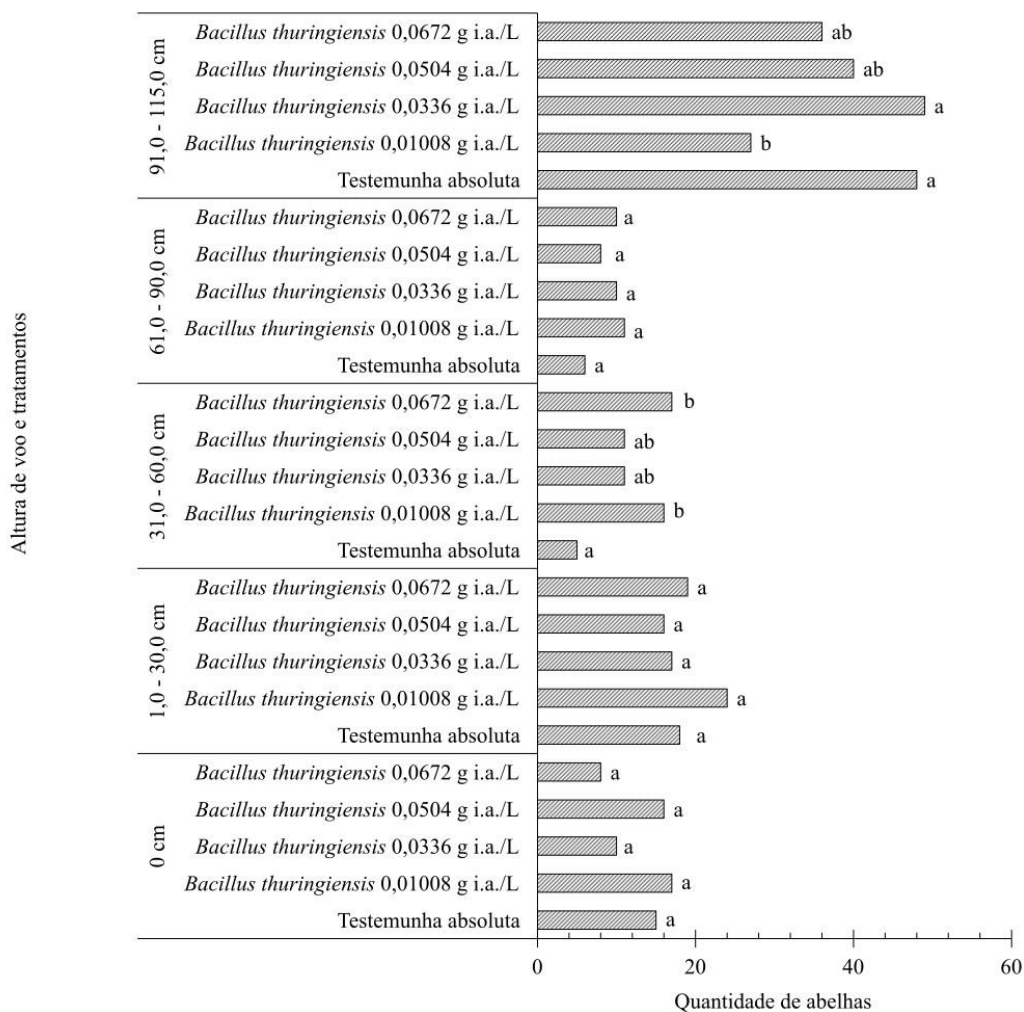


Figura 1. Atividade de voo de *Apis mellifera* após a ingestão de dieta contaminada com o biopesticida *Bacillus thuringiensis*, Pombal, 2024.

Assim, avaliando os efeitos de *B. thuringiensis* sobre a capacidade de voo de operárias adultas de *A. mellifera*, foi constatado que não ocorreu interferência no desempenho de voo das abelhas após às 24 horas de exposição, afinal cerca de 200 abelhas, conseguiram chegar na altitude de 91 a 115 cm, enquanto que apenas 66 abelhas ficaram na base da torre (0 cm). É importante ressaltar que diante dos resultados observados em confinamento, possivelmente em condições de campo as abelhas conseguiriam completar suas atividades e retornar com sucesso para a colmeia, mantendo a organização e sobrevivência de toda a colônia, afinal a sobrevivência das abelhas depende da sua capacidade de voar.

CONCLUSÕES

O produto comercial formulado à base de *B. thuringiensis* não interferiu no comportamento e capacidade de voo, independente da dose utilizada, após 24 horas de exposição.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 05 Mai. 2024.
- CHAM, K. de O.; REBELO, R. M.; OLIVEIRA, R. de P.; FERRO, A. A.; VIANASILVA, F. E. de C.; BORGES, L. de O.; SARETTO, C. O. S. D.; TONELLI, C. A. M.; MACEDO, T. C. Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas. Brasília: Ibama/Diqua, 2017. 105p.
- COBRA, S. S. O. et al. Características florais e polinizadores na qualidade de frutos de cultivares de maracujazeiro-azedo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 50, n. 1, p.54-62, 2015.
- 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.
- 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: John Wiley & Sons, p. 350, 2000.
- GOMES, I. N.; VIEIRA, K. I. C.; GONTIJO, L. M.; RESENDE, H. C. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. Ecotoxicology, v. 29, n. 1, p. 97 – 107, 2020.
- HEARD, M. S.; BAAS, J.; DORNE, J. L.; LAHIVE, E.; ROBINSON, A. G.; RORTAIS, A.; SPURGEON, D. J.; SVENDSEN, C.; HESKETH, H. Comparative toxicity of pesticides and environmental contaminants in bees: Are honey bees a useful proxy for wild bee species? Science of the Total Environment, v. 578, p. 357–365, 2017
- 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.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. 2019. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em 14 fev. 2022.
- RAMOS, J. M.; CARVALHO, N.C. Estudo morfológico e biológicos das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. Revista científica eletrônica de engenharia florestal. 2007.
- RENZI, M. T.; AMICHOT, M.; PAURON, D.; TCHAMITCHIAN, S.; BRUNET, J. L.; KRETZSCHMAR, A.; MAINI, S.; BELZUNCES, L. P. Chronic toxicity and physiological changes induced in the honey bee by the exposure to fipronil and *Bacillus thuringiensis* spores alone or combined. Ecotoxicology And Environmental Safety, v. 127, p. 205-213. 2016.
- RIBEIRO, R. O. R. Elementos traço em méis de abelhas (*Apis mellifera*) do estado do Rio de Janeiro, Brasil: Influência da sazonalidade. 2010. 107p. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) - Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.
- WU-SMART, J.; SPIVAK, M. Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. Scientific Reports, v. 6, n. 32108, 2016.