



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

ACÇÃO RESIDUAL DE FIPRONIL NA SOBREVIVÊNCIA DE *Apis mellifera* L. (HYMENOPTERA: APIDAE) AFRICANIZADA.

Fipronil residual action on the survival of Apis mellifera l. (Hymenoptera: Apidae) africanized.

Leticia da Silva Ribeiro, Michele Potrich,

Cristiane Lurdes Paloschi, Natália Ramos Mertz, Bruna Luciane Escher, Andressa Faleira
Andrade, Everton Ricardi Lozano da Silva, Fabiana Martins Costa Maia.

RESUMO

Representando cerca de 1% das espécies de abelhas já catalogadas e identificadas pelo mundo, *Apis mellifera* é uma das abelhas responsáveis pelo serviço ecossistêmico mais importante do mundo: a polinização. Entretanto, sua mortalidade vem causando preocupação. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação residual do inseticida Fipronil, com e sem fotoperíodo sobre a sobrevivência de operárias de *A. mellifera* africanizada. Para a avaliação do efeito residual, foram utilizadas placas de petri de vidro pulverizadas com 290 µL do inseticida Fipronil, com a concentração letal média em 48 horas (CL₅₀) de 5,03 ppm e água destilada esterilizada para a testemunha. Estes foram pulverizados e deixados em ambiente com e sem presença de luz por nove, seis, três e zero dia antes do contato, com as abelhas. O contato das abelhas com as placas ocorreu por 2 horas. Após este período, as abelhas foram inseridas em gaiolas de PVC com alimento (solução açucarada) e alocadas em sala climatizada, sendo avaliada a mortalidade, periodicamente de 2 até 120 horas após contato. Os tratamentos com Fipronil, com e sem presença de luz, reduziram a sobrevivência das abelhas, porém o Fipronil na ausência de luz, apresentou maior efeito residual, afetando a sobrevivência das operárias de *A. mellifera*.

Palavras-chave: Abelhas, sobrevivência, seletividade, inseticida.

ABSTRACT

Representing about 1% of the bee species already cataloged and identified around the world, *Apis mellifera* is one of the bees responsible for the most important ecosystem service in the world: pollination. However, its mortality has been causing concern. Thus, the objective of this work was to evaluate the residual action of the insecticide Fipronil, with and without photoperiod, on the survival of Africanized *A. mellifera* workers. To evaluate the residual effect, glass petri dishes sprayed with 290 µL of the insecticide Fipronil were used, with an average lethal concentration in 48 hours (LC₅₀) of 5.03 ppm and sterilized distilled water for the control. These were sprayed and left in an environment with and without the presence of light for nine, six, three and zero days before contact with the bees. The contact of the bees with the plates took place for 2 hours. After this period, the bees were placed in PVC cages with food (sugar solution) and placed in an acclimatized room, and mortality was evaluated periodically from 2 to 120 hours after contact. Treatments with Fipronil, with and without the presence of light, reduced the survival of bees, but Fipronil in the absence of light had a greater residual effect, affecting the survival of *A. mellifera* workers.

Keywords: Bees, survival, selectivity, insecticide.



1 INTRODUÇÃO

Representando cerca de 1% das espécies de abelhas já catalogadas e identificadas pelo mundo, as abelhas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) são responsáveis pela produção de diferentes subprodutos e pelo serviço ecossistêmico mais importante do mundo: a polinização (WILSON; CARRIL, 2016; SOARES, 2016). Preservando a rede de interação existente entre as plantas e os animais, bem como a variabilidade genética das espécies vegetais, as abelhas têm demonstrando quão importante são para o ecossistema mundial (SILVA; PAZ, 2021; DONKERSLEY, 2019).

As abelhas visitam diversos cultivos para a obtenção de pólen e néctar e, com isso, realizam a polinização e aumentam a produtividade das culturas. Entretanto, nos cultivos são utilizados diferentes tipos de produtos fitossanitários, tanto para o controle de doenças quanto para o controle de insetos-praga. Entre esses produtos, destaca-se o inseticida fipronil.

Fipronil é um inseticida sintético sistêmico, que age por contato e/ou ingestão em organismos-alvo, quando utilizado em tratamentos foliares em diferentes culturas/espécies florestais. É um inseticida de amplo espectro de ação e versatilidade de aplicação. Porém, também causam efeitos negativos sobre organismos não-alvo, como em *A. mellifera*, como alterações comportamentais e fisiológicas, toxicidade aguda, tremores, paralisias, convulsões e morte (PACÍFICO-DA-SILVA; MELO; SOTO-BLANCO, 2016; SOUZA, 2015).

Logo, o uso excessivo e incorreto de inseticidas sintéticos pelos agricultores nas culturas agrícolas e florestais tem desencadeado o desaparecimento de *A. mellifera* de forma preocupante (BOVI, 2013). Diante disso, a realização de estudos sobre seletividade, longevidade e o modo de ação deste inseticida sobre organismos não-alvo, como as abelhas e outros insetos, é de extrema necessidade e importância. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação residual do inseticida Fipronil, com e sem fotoperíodo, sobre a sobrevivência de operárias adultas de *A. mellifera* africanizada.

2 MÉTODO

2.1 Obtenção das abelhas

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico I e na Unidade de Ensino e Pesquisa de Apicultura (UNEPE – Apicultura) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus Dois Vizinhos* (UTFPR-DV). As abelhas recém-emergidas utilizadas no experimento foram provenientes de favos com crias operculadas da UNEPE Apicultura. Foram removidos quadros identificados com crias de 19 dias e estes foram embalados em papel Kraft, perfurados e lacrados e transportados até o Laboratório de Controle Biológico I. Os mesmos foram acondicionados em câmaras climatizadas (tipo B.O.D) nas condições: $30 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$, aproximadamente, 48 horas, com intuito de recriar as condições ambientais existente dentro das colônias e assim obter emergência homogênea das abelhas.

2.2 Bioensaio

Para os bioensaios foi pulverizado 290 μL do inseticida Fipronil, na concentração de 5,3 ppm (concentração obtida em experimentos preliminares) na superfície interna de placas de Petri de vidro, com auxílio de um aerógrafo Pneumatic Sagyma[®] acoplado a uma bomba Fanem[®] de pressão constante (1,2 kgf/cm). A testemunha consistiu em um único tratamento pulverizado com água destilada esterilizada para ambos os grupos (com e sem fotoperíodo). Em seguida, as placas foram mantidas em uma capela de fluxo

laminar até a secagem das gotículas. Um grupo de placas foi usado imediatamente no experimento, sendo denominado tempo “zero”. O restante foi dividido em dois grupos, um foi mantido em condições de temperatura controlada e luminosidade não controladas, com incidência de luz, enquanto o outro tratamento foi mantido dentro de uma caixa organizadora preta, que não permitia a entrada de luz. As placas do grupo com e sem fotoperíodo foram mantidas nestas condições por nove, seis, três dias após a pulverização, quando foram usadas no experimento.

Cada tratamento (Tab. 1) contou com cinco placas, sendo que cada uma foi considerada uma repetição. Cada repetição recebeu 10 abelhas previamente anestesiadas (com dióxido de carbono – CO₂ por até 120 segundos), que foram mantidas nas placas por 2 horas (Fig. 1). Após este período, as abelhas foram transferidas para gaiolas de PVC, cobertas com tecido *voil*. Dentro destas, foi disponibilizado, em tampas de garrafas PET, uma solução açucarada como fonte de alimento. As gaiolas contendo as abelhas foram levadas para câmaras climatizadas (30 ± 2°C, UR 60 ± 10%) onde a mortalidade das operárias foi contabilizada a 2, 4, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a transferência.

Tabela 1 – Caracterização dos tratamentos do bioensaio de sobrevivência de operárias de *Apis mellifera* africanizada após contato com o inseticida Fipronil.

Tratamentos	Descrição
T0	Testemunha
T1	Nove dias antes do bioensaio – com e sem fotoperíodo
T2	Seis dias antes do bioensaio – com e sem fotoperíodo
T3	Três dias antes do bioensaio – com e sem fotoperíodo
T4	“Zero dia” do bioensaio.

Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 1 – Abelhas em contato com o inseticida Fipronil por duas horas na sala de criação do Laboratório de Controle Biológico I e posteriormente transferidas para dentro das câmaras climatizadas.



Fonte: Autoria própria (2021).



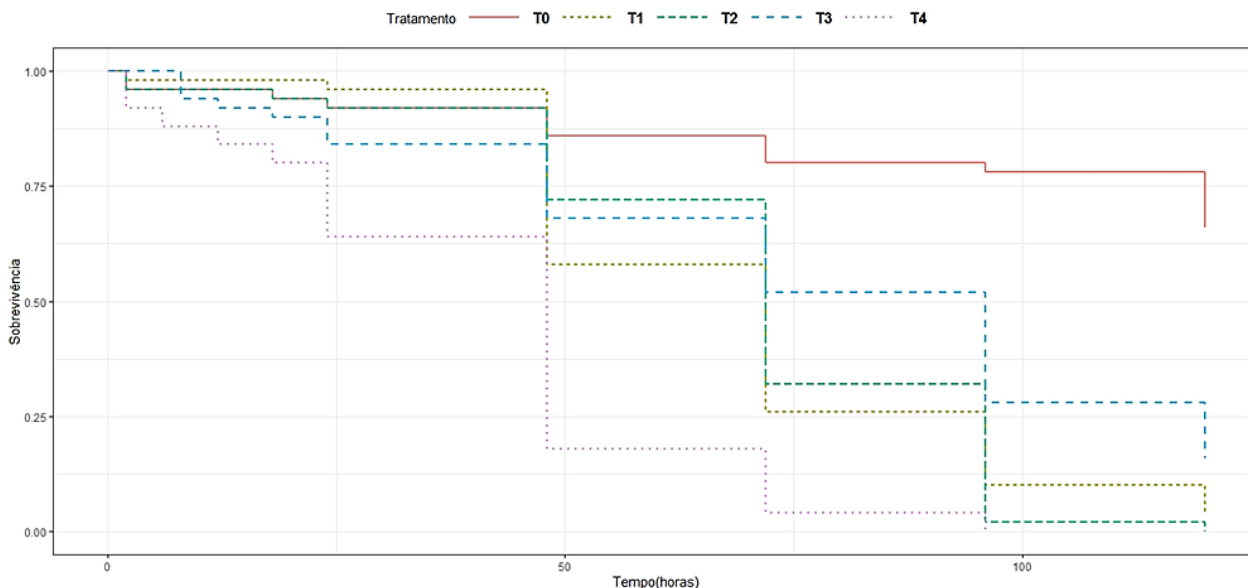
2.3 Análises estatísticas

Foi realizado a análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, enquanto o teste de comparação entre os tratamentos, foi realizado pelo teste de log-rak. A análise integral dos dados foi realizada através do pacote de sobrevivência (THERNEAU, 2015) do software R (R core Team, 2019).

3 RESULTADOS

O tratamento T4, de contato com a placa no tempo zero, causou maior redução na sobrevivência de operárias de *A. mellifera* quando comparada com o resíduo do inseticida submetido a diferentes dias de fotodegradação (com presença de luz). Esta redução ocorreu, principalmente após 50 horas de contato das abelhas com as placas. A sobrevivência das abelhas foi de, aproximadamente, 18% no tratamento “zero dia”, 56% no tratamento de nove dias de fotodegradação, 68% no tratamento de seis dias de fotodegradação e de 72% no tratamento com três dias de fotodegradação (Fig. 2). Enquanto a testemunha apresentava 75% das abelhas vivas neste período. Desta forma observa-se que o produto fotodegradado foi menos letal que o produto recentemente pulverizado.

Figura 2 - Gráfico de sobrevivência (Kaplan-Meier) de operárias de *Apis mellifera* africanizada após o contato com o inseticida Fipronil submetido a presença de luz por diferentes dias. Sendo T0 = testemunha; T1 = nove dias; T2 = seis dias; T3 = três dias; T4 = zero dia.

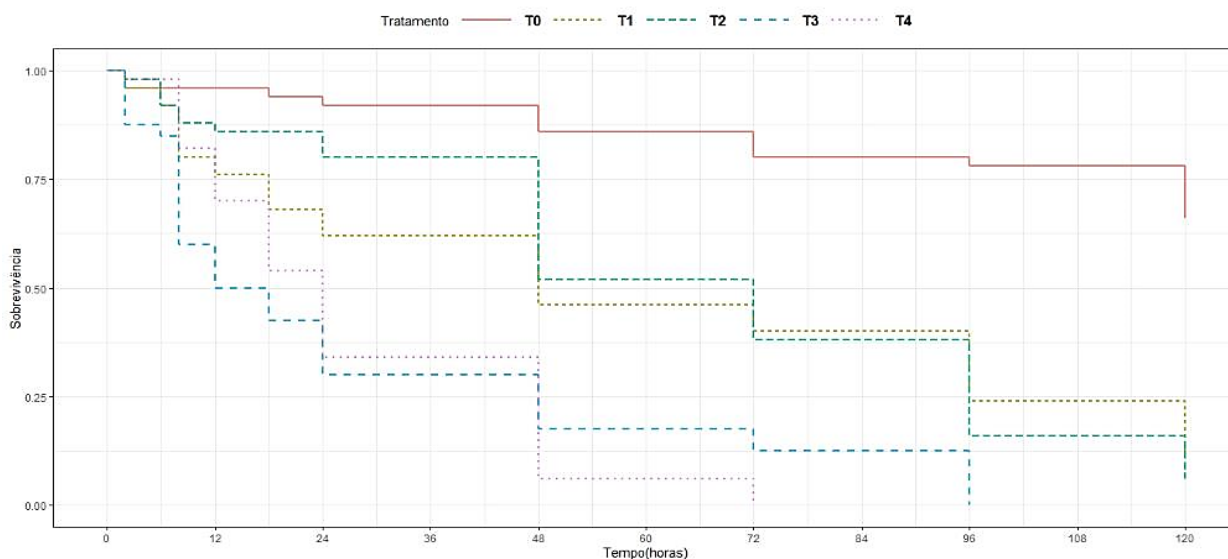


Fonte: Autoria própria (2021).

O inseticida Fipronil, pulverizado em placas de petri protegidas da exposição da luz (sem fotodegradação) e, posteriormente disposta para contato com as operárias de *A. mellifera*, provocou redução na sobrevivência destas abelhas. O tratamento “zero dia” apresentou apenas 6% de abelhas vivas, 50 horas após o contato inicial. Nas placas com tratamento de três dias, apenas 31% das abelhas estavam vivas neste período, nas placas com o tratamento de nove dias 48% das abelhas estavam vivas, e no tratamento de seis dias, 52% das abelhas

estavam vivas. Já nas placas em que as abelhas entraram em contato com a testemunha (controle), foi constatado 75% de sobrevivência neste mesmo período (Fig. 3).

Figura 3 – Gráfico de sobrevivência (Kaplan-Meier) de operárias de *Apis mellifera* africanizada após o contato com o inseticida Fipronil submetido a ausência de luz por diferentes dias. Sendo T0 = testemunha; T1 = nove dias; T2 = seis dias; T3 = três dias; T4 = zero dia.



Fonte: Autoria própria (2021).

Pode-se observar que os tratamentos sem a presença de luz provocaram maior redução na longevidade das operárias de *A. mellifera*, quando comparado aos que estavam na presença de luz. Isto indica, que a ausência de luz no local de pulverização de permanência das placas com o inseticida Fipronil prolonga a eficiência do seu princípio ativo, contribuindo para a sua ação letal sobre as abelhas.

Por ser um inseticida sistêmico neurotóxico, que age por contato e/ou ingestão em insetos, o seu princípio ativo tem poder de atuar rapidamente nas membranas pós-sinápticas dos mesmos, bloqueando seus canais de cloreto, receptores específicos do GABA, causando hiperexcitabilidade, paralisia, tremores e morte destes insetos (PACÍFICO-DA-SILVA; MELO; SOTO-BLANCO, 2016; SOUZA, 2015). Este efeito foi observado em abelhas, um organismo não-alvo, reduzindo a sobrevivência e causando mortalidade de operárias de *A. mellifera*, quando estava presente na superfície de contato.

4 CONCLUSÃO

O inseticida Fipronil, quando em contato com uma superfície lisa e deixado em um ambiente sem presença de luz, provoca maior redução na sobrevivência de abelhas operárias de *A. mellifera* africanizada em comparação a este mesmo inseticida deixado em exposição à luz. Mais estudos avaliando o efeito residual deste inseticida sobre organismos não-alvos, além da influência do fotoperíodo, devem ser realizados.

AGRADECIMENTOS



Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo fomento ao projeto. À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), à UNIOESTE (Universidade Estadual do Oeste do Paraná) e a UTFPR (Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

REFERÊNCIAS

BOVI, T.S. **Toxicidade de inseticidas para abelhas *Apis mellifera* L.** 2013. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013. Disponível em:<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/104999/bovi_ts_me_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em 14 ago. 2021.

DONKERSLEY, Philip. **Trees for bees.** Agriculture, Ecosystems & Environment, volumes 270–271, 2019, pages 79-83. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880918304481>>. Acesso em: 14 ago. 2021.

PACÍFICO-DA-SILVA, I.; MELO, M.M.; SOTO-BLANCO, B. Toxic effects of pesticides to bees. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 1, p. 142-157, 2016. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160013>.

SILVA W.P., PAZ J.R.L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica (2012). **Natureza online** 10 (3): 146-152. Disponível em:<https://www.researchgate.net/profile/Joicelene-Paz/publication/282861548_Abelhas_sem_ferrao_muito_mais_do_que_uma_importancia_economica/links/561fe47108aea35f267e10fa/Abelhas-sem-ferrao-muito-mais-do-que-uma-importancia-economica.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2021.

SOARES, Jefferson Bruno Carvalho. **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre abelhas *Apis mellifera* L. (africanizadas).** Mossoró, 2016. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semiárido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Disponível em:<<https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/tede/568/1/JeffersonBCS DISSERT.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2021.

SOUZA, E.A. **Própolis na dieta de abelhas *Apis mellifera* L. e seu efeito no sistema imune, expressão de genes após o desafio bacteriano e detoxificação frente ao agroquímico Fipronil.** 2015. 73 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2015. Disponível em:<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/132422/souza_ea_dr_bot_int.pdf?sequence=4&isAllowed=y>. Acesso em 14 ago. 2021.

THERNEAU, T. (2015). **A Package for Survival Analysis in S. version 2.38.** Disponível em:<<https://CRAN.R-project.org/package=survival>>. Acesso em 14 ago. 2021

WILSON, J.S.; CARRIL, O.M. The bees in your Beckhard: A guide to North America's Bees. 2016. **Princeton University Press.** 289 p.