

TOXICIDADE ORAL AGUDA DE INSETICIDAS UTILIZADOS EM BRASSICACEAE PARA *Apis mellifera*

Andressa Linhares Dorneles¹; Caroline Cozer Vicari²; Fernanda Gomes de Carvalho²; Aroni Sattler³; Betina Blochtein⁴; Alberto Luiz Marsaro Júnior⁵

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Zoologia-PUCRS, Porto Alegre, RS; ²Acadêmica do curso de Ciências Biológicas-PUCRS; ³Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; ⁴Doutora Professora titular da Faculdade de Biociências-PUCRS, Orientadora;

⁵Pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

RESUMO

Plutella xylostella é uma das principais pragas da cultura da canola. Para controle dessa praga, geralmente, utilizam-se inseticidas. Considerando-se que *P. xylostella* também ocorre na fase de florescimento da canola e que aplicações de inseticidas nessa fase sejam utilizadas para o controle dessa praga, existe a possibilidade desses agrotóxicos contaminarem o pólen e o néctar das flores e, dessa forma, resíduos desses químicos podem ser ingeridos por operárias adultas de abelhas no campo. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade para *Apis mellifera*, por teste oral agudo, dos inseticidas bifentrina, clorfantriliprole e clorfenapir, registrados para brássicas para o controle de *P. xylostella*. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS. Foram testadas as formulações comerciais dos inseticidas bifentrina (40% de ingrediente ativo), clorfantriliprole (20% de ingrediente ativo) e clorfenapir (24% de ingrediente ativo). Para a realização dos testes de toxicidade oral aguda os inseticidas foram diluídos em solução de sacarose (1:1) nas concentrações de 100%, 50% e 1% da dose indicada e registrada no Mapa para o controle de *P. xylostella*. Foram utilizados quatro tratamentos relativos a cada inseticida, sendo três com as diluições referidas e um controle sem adição de inseticida. Cada tratamento foi replicado quatro vezes e cada réplica foi composta por 20 abelhas, totalizando 80 abelhas por tratamento. A exposição a cada tratamento foi de 6 horas, após esse período os alimentadores com inseticida foram substituídos por outros com solução de sacarose até o final do experimento. As abelhas foram monitoradas a cada hora (por 6 horas) e 24 horas e 48 horas após a exposição aos inseticidas. Para as análises de sobrevivência utilizou-se o teste de Kaplan-Meier, seguido por comparação par-a-par pelo método de Bonferroni. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R[®]. Os inseticidas bifentrina e clorfenapir foram considerados altamente tóxicos para as abelhas, enquanto clorfantriliprole foi o produto que causou o menor impacto sobre esse polinizador. De maneira geral, todos os inseticidas testados apresentaram toxicidade oral para *A. mellifera*, mesmo nas menores concentrações, porém, o inseticida clorfantriliprole destacou-se como o menos tóxico para as abelhas forrageiras dessa espécie polinizadora.

Palavras-chave: Bifentrina, *Brassica napus*, clorfantriliprole, clorfenapir, polinizadores.

INTRODUÇÃO

A canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) é danificada por diversas pragas ao longo do seu ciclo de desenvolvimento, destacando-se a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), como uma das mais importantes. As larvas dessa praga causam injúrias em folhas, hastes e epiderme das siliquis. Devido aos danos ocasionados por essa praga para a cultura da canola, medidas para o seu controle frequentemente são adotadas, destacando-se o uso de inseticidas como uma das mais utilizadas.

O uso de inseticidas, geralmente, realiza um controle rápido e eficiente das pragas nas lavouras, e com custos relativamente baixos. Porém, apesar das vantagens do uso dos inseticidas para controle de pragas, muitos desses produtos químicos são tóxicos para insetos benéficos como os inimigos naturais (predadores e parasitoides) e polinizadores.

Os polinizadores na cultura da canola contribuem significativamente para a elevação do rendimento de grãos, podendo incrementar em até 30% esse parâmetro (BLOCHTEIN et al., 2014). Nessa cultura, as abelhas, pela sua diversidade e abundância, destacam-se como os principais insetos polinizadores. As lavouras de canola são visitadas, e suas flores polinizadas, pela espécie exótica *Apis mellifera* L. e, também, por diversas espécies de abelhas nativas (HALINSKI et al., 2015). Portanto, a preservação desses insetos polinizadores é primordial para a garantia de rendimentos mais elevados e de uma produção mais sustentável para a cultura da canola.

Considerando-se que a traça-das-crucíferas também ocorre na fase de florescimento da canola e que aplicações de inseticidas nessa fase sejam utilizadas para o controle dessa praga, existe a possibilidade desses agrotóxicos contaminarem o pólen e o néctar das flores e, dessa forma, resíduos desses químicos podem ser ingeridos por operárias adultas de abelhas no campo.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade para *A. mellifera*, por teste oral agudo, dos inseticidas bifentrina, clorantraniliprole e clorfenapir, registrados para brássicas para o controle de *P. xylostella*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os testes de toxicidade oral aguda foram realizados de acordo com as diretrizes internacionais para estudos de risco de agrotóxicos (OECD, 1998), com algumas modificações.

As abelhas utilizadas nesse estudo foram obtidas de colônias de *A. mellifera*, provenientes do Laboratório de Apicultura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), localizado no município de Porto Alegre, RS. As abelhas forrageiras foram coletadas na entrada das colônias (alvado) e em seguida transferidas para caixas plásticas (5 cm x 13 cm x 13 cm), sendo mantidas em câmaras de criação com temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 2\%$, com ausência de luminosidade, durante todo o experimento. Todos os testes de toxicidade oral aguda foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS.

Foram testadas as formulações comerciais dos inseticidas bifentrina (40% de ingrediente ativo), clorantraniliprole (20% de ingrediente ativo) e clorfenapir (24% de ingrediente ativo). As concentrações dos inseticidas avaliados foram baseadas na indicação do produto registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), para o controle da praga *P. xylostella* (Tabela 1). Para se definir a concentração utilizada de Bifentrina considerou-se um volume de calda de 200 L/ha.

Tabela 1. Culturas e doses dos inseticidas indicadas e registradas no Mapa para o controle de *Plutella xylostella*.

Ingrediente ativo	Cultura	Dose indicada registrada
Bifentrina	Canola	80 mL/ha
Clorantraniliprole	Couve	7,5 mL/100 L de água
Clorfenapir	Repolho	100 mL/100 L de água

Fonte: Agrofit (2017).

Para a realização dos testes de toxicidade oral aguda os inseticidas foram diluídos em solução de sacarose (1:1) nas concentrações de 100%, 50% e 1% da dose indicada e registrada no Mapa para o controle de *P. xylostella*. Foram utilizados quatro tratamentos relativos a cada inseticida, sendo três com as diluições referidas e um controle sem adição de inseticida. Cada tratamento foi replicado quatro vezes e cada réplica foi composta por 20 abelhas, totalizando 80 abelhas por tratamento.

A fim de minimizar o estresse ocasionado pelo confinamento, as abelhas permaneceram em adaptação nas primeiras 24 horas após a coleta, sendo alimentadas somente com solução de sacarose (sem inseticida). Após esse período, as abelhas permaneceram 2 horas em jejum a fim de estimular o consumo da substância teste. A exposição a cada tratamento foi de 6 horas, após esse período os alimentadores com inseticida foram substituídos por outros com solução de sacarose até o final do experimento. As abelhas foram monitoradas a cada hora (por 6 horas) e 24 horas e 48 horas após a exposição aos inseticidas. A quantidade de alimento consumida foi calculada, por meio da diferença de peso do alimentador no início dos testes e após 6 horas de consumo. Para as análises de sobrevivência utilizou-se o teste de Kaplan-Meier, seguido por comparação par-a-par pelo método de Bonferroni. A fim de comparar se houve diferença no consumo de alimento entre os tratamentos e o controle utilizou-se ANOVA *one way*. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R[®].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes de toxicidade oral aguda realizados com as formulações comerciais dos inseticidas bifentrina, clorantraniliprole e clorfenapir, apresentaram diferentes níveis de toxicidade para *A. mellifera*.

Toxicidade de bifentrina

Nos testes realizados com bifentrina a sobrevivência das abelhas após 48 horas foi de 71% no tratamento controle, 21% no tratamento com 1% da dose do inseticida, e 0% nos tratamentos com 50% e 100% da dose do produto (Figura 1). Conforme os resultados, todos os tratamentos com inseticida diferiram significativamente do controle ($p < 0,001$). A totalidade das abelhas expostas à dose de 100% morreram após 5 horas da ingestão do inseticida. No tratamento com 50% da dose do inseticida a mortalidade de todas as abelhas ocorreu após 24 horas, e no tratamento de 1% da dose, após 48 horas, a mortalidade foi de aproximadamente 80%. Dessa forma, o tratamento com 1% da dose do inseticida diferiu dos demais ($p = 0,001$ para 100% e $p = 0,002$ para 50% da dose). O consumo médio de alimento por abelha foi de 0,0242 g no controle, 0,0258 g no tratamento 1%, 0,0267 g no tratamento de 50% e 0,0082 g no tratamento de 100% da dose. Embora o consumo de alimento tenha sido menor no tratamento de 100% da dose, não houve diferença significativa nos tratamentos com adição de inseticida, quando comparado ao controle ($F = 2,5279$, $p = 0,1066$).

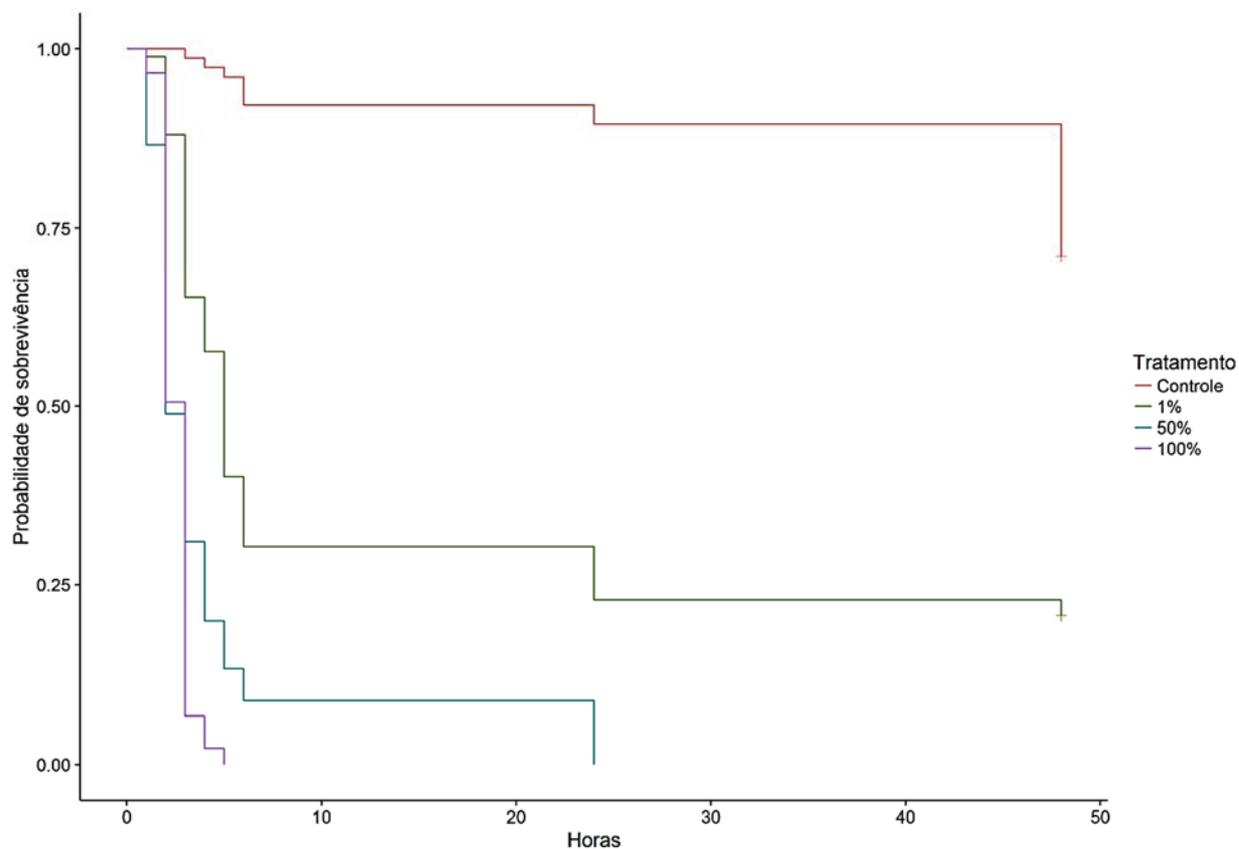


Figura 1. Probabilidade de sobrevivência de abelhas adultas de *A. mellifera* após a ingestão de bifentrina em diferentes concentrações.

Toxicidade de clorfenapir

Nos testes relativos ao inseticida clorfenapir a sobrevivência das abelhas após 48 horas foi de 71% no tratamento controle e de 0% nos demais tratamentos (Figura 2). Foi detectada diferença significativa entre os tratamentos com inseticida quando comparados ao controle ($p < 0,001$). Após 24 horas de exposição ao inseticida todas as abelhas já haviam morrido no tratamento 50% e 100%, e após 48 horas todas morreram no tratamento 1% da dose. O consumo médio de alimento por abelha foi de 0,0242 g no controle, 0,0363 g no tratamento 1%, 0,0335 g no tratamento de 50% e 0,0157 g no tratamento de 100% da dose. Foi demonstrado que não houve diferença significativa no consumo de alimento entre os tratamentos com inseticida e o controle ($F = 3,3815$, $p = 0,05424$).

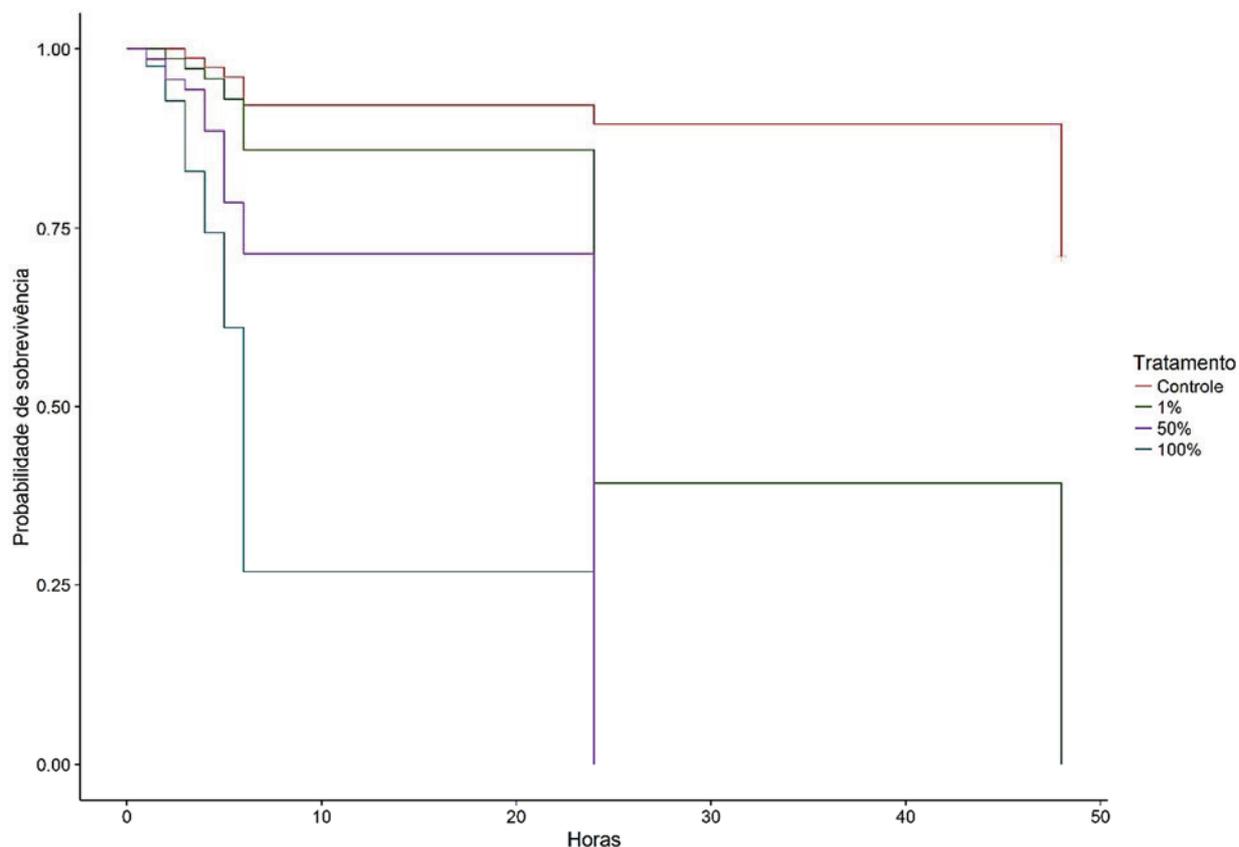


Figura 2. Probabilidade de sobrevivência de abelhas adultas de *A. mellifera* após a ingestão de clorfenapir em diferentes concentrações.

Toxicidade de clortraniliprole

Nos testes realizados com clortraniliprole a sobrevivência das abelhas após 48 horas foi de 71%, 49%, 51% e 48%, respectivamente, nos tratamentos controle, 1%, 50% e 100% da dose do inseticida (Figura 3). De acordo com o método de Bonferroni os tratamentos 1% e 100% da dose diferiram significativamente do controle ($p = 0,049$; $p = 0,012$, respectivamente). No entanto, o tratamento 50% da dose não apresentou diferença significativa quando comparado ao controle ($p = 0,089$). Entre os tratamentos com inseticida não houve diferença significativa ($p = 1,000$). As taxas de mortalidade após 24 horas foram de 11% no controle e de 35%, 31% e 33% para os tratamentos 100%, 50% e 1% da dose, respectivamente. O consumo médio de alimento por abelha foi de 0,0242 g no controle, 0,0195 g no tratamento 1%, 0,0188 g no tratamento de 50% e 0,0193 g no tratamento de 100% da dose. Não houve diferença significativa no consumo entre os tratamentos com inseticida e o controle ($F = 1,0641$, $p = 0,4006$).

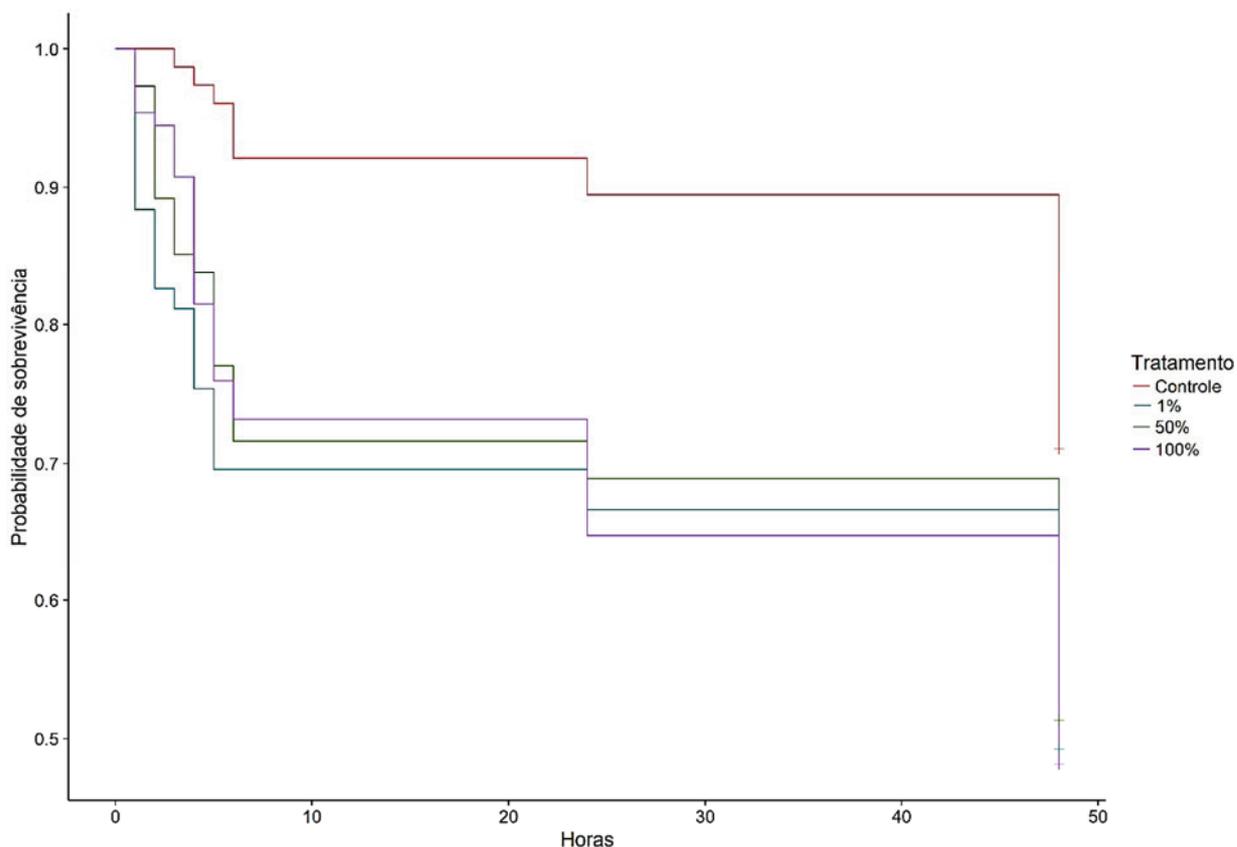


Figura 3. Probabilidade de sobrevivência de abelhas adultas de *A. mellifera* após a ingestão de clorfaniliprole em diferentes concentrações.

O consumo de alimento pelas abelhas no controle e nas concentrações dos inseticidas avaliados não apresentou diferença significativa, indicando que a ingestão do alimento pelas abelhas não foi afetada pela adição dos inseticidas na solução de sacarose. Mesmo nas concentrações mais altas não houve nenhum efeito de repelência durante o teste oral. Outros estudos também relataram que as abelhas adultas expostas a inseticidas organofosforados e neonicotinoides também não evitam o alimento com agrotóxicos (DORNELES et al., 2017; KESSLER et al., 2015). Isso mostra que possivelmente em uma situação de campo, caso as fontes de alimento das abelhas sejam contaminadas por inseticidas, as operárias podem ingerir resíduos desses produtos. Por isso, a aplicação de inseticidas não seletivos para as abelhas nas lavouras deve ser realizada em período de ausência de floração, de tal forma que não contamine as fontes de alimento desses polinizadores.

Comparando-se a toxicidade dos três inseticidas, percebe-se que bifentrina é mais tóxico num curto período de tempo, pois após 5 horas de exposição todas as abelhas já haviam morrido no tratamento de 100% da dose, nesse mesmo período de tempo somente 39% das abelhas haviam morrido nessa mesma concentração com a ingestão de clorfenapir e 24% com clorfaniliprole. No entanto, o inseticida clorfenapir apresentou maior toxicidade oral, pois ao final do experimento (48h) todas as abelhas expostas haviam morrido, mesmo na concentração mais baixa (1%).

Nossos resultados demonstraram que clorfaniliprole apresentou uma baixa taxa de mortalidade para as abelhas, por ação de ingestão, até as 48 horas de observação, sendo esse produto o menos tóxico para as operárias de *A. mellifera* entre os inseticidas testados. Corroborando com os estudos de Dinter et al. (2009) e Smagghe et al. (2013) que relataram que esse ingrediente ativo é menos tóxico para abelhas forrageiras de *Bombus terrestris* e *A. mellifera*.

Os inseticidas bifentrina e clorfenapir foram considerados altamente tóxicos nos testes realizados com abelhas adultas de *A. mellifera*. Tendo em vista a elevada toxicidade desses produtos, as aplicações desses inseticidas devem ser evitadas durante o período de florescimento da cultura da canola. Em

casos de comprovada necessidade de controle de *P. xylostella*, esses produtos químicos deverão ser aplicados em horários de ausência ou de baixa visitação das abelhas nas flores da cultura-alvo. Ressalta-se que o clorfenapir só poderá ser utilizado na canola quando estiver registrado no Mapa para uso nessa cultura.

Considerando os inseticidas testados, o clorantraniliprole é o produto que causou o menor impacto sobre as abelhas. Isso sugere que o uso desse produto reduziria os efeitos negativos das aplicações de inseticidas sobre *A. mellifera*, podendo ser uma alternativa para reduzir o impacto negativo de produtos não seletivos sobre esse importante inseto polinizador nessa cultura. Ressalta-se, porém, que o clorantraniliprole só poderá ser utilizado na canola quando estiver registrado para uso nessa cultura no Mapa.

CONCLUSÕES

Todos os inseticidas testados apresentaram toxicidade oral para *A. mellifera*, mesmo nas menores concentrações, porém, o inseticida clorantraniliprole destacou-se como o menos tóxico para as abelhas forrageiras dessa espécie polinizadora.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 4 ago. 2017.
- BLOCHTEIN, B.; NUNES-SILVA, P.; HALINSKI, R.; LOPES, L. A.; WITTER, S. Comparative study of the floral biology and of the response of productivity to insect visitation in two rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) in Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 74, n. 4, p. 787-794, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.02213>.
- DINTER, A.; BRUGGER, K. E.; FROST, N. M.; WOODWARD, M. D. Chlorantraniliprole (Rynaxypyr): A novel DuPont™ insecticide with low toxicity and low risk for honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus terrestris*) providing excellent tools for uses in integrated pest management. **Julius-Kühn-Archiv**, Berlim, n. 423, p. 84-96, 2009.
- DORNELES, A. L.; SOUZA ROSA, A. de; BLOCHTEIN, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, Paris, v. 48, n. 5, p. 612-620, 2017. DOI: [10.1007/s13592-017-0502-x](https://doi.org/10.1007/s13592-017-0502-x)
- HALINSKI, R.; DORNELES, A. L.; BLOCHTEIN, B. Bee assemblage in habitats associated with *Brassica napus* L. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 59, n. 3, p. 222-228, 2015.
- KESSLER, S. C.; TIEDEKEN, E. J.; SIMCOCK, K. L.; DERVEAU, S.; MITCHELL, J.; SOFTLEY, S.; RADCLIFFE, A.; STOUT, J. C.; WRIGHT, G. A. Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. **Nature**, London, v. 521, p. 74-76, 2015. DOI: [10.1038/nature14414](https://doi.org/10.1038/nature14414).
- OECD. **Guidelines for the testing of chemicals: honeybees, acute oral toxicity test**. Paris, 1998. 8 p. (OECD. Environmental Health Safety Division, 213).
- SMAGGHE, G.; DEKNOPPER, J.; MEEUS, I.; MOMMAERTS, V. Dietary chlorantraniliprole suppresses reproduction in worker bumblebees. **Pest Management Science**, Sussex, v. 69, n. 7, p. 787-791, 2013. DOI: [10.1002/ps.3504](https://doi.org/10.1002/ps.3504).