

MORTALIDADE DE ABELHAS SEM FERRÃO *Scaptotrigona bipunctata* SOB OS EFEITOS DOS HERBICIDAS PARAQUAT E DIQUAT

Marina Carvalho Peruzzolo¹ 

Luciana Grange² 

Ludimilla Ronqui³ 

PERUZZOLO, M. C.; GRANGE, L.; RONQUI, L. Mortalidade de abelhas sem ferrão *scaptotrigona bipunctata* sob os efeitos dos herbicidas paraquat e diquat. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, Umuarama, v. 24, n. 1cont., e2407, 2021.

RESUMO: As abelhas exercem essencial atividade polinizadora, além de fundamentais na manutenção ecossistêmica, também polinizam diversos sistemas agrícolas. São crescentes os relatos sobre o desaparecimento de abelhas, possivelmente em decorrência do intenso uso de agrotóxicos, os quais não possuem seus efeitos sobre a biodiversidade, de fato, conhecidos. A maioria dos estudos nessa área é voltada para a compreensão dos efeitos de inseticidas, porém, os herbicidas também podem influenciar na mortalidade dos insetos polinizadores. Referente aos herbicidas paraquat e diquat, amplamente utilizados na agricultura, pouco se conhece sobre os efeitos que atingem organismos não-alvo, como as abelhas. Este trabalho avaliou a mortalidade das abelhas *Scaptotrigona bipunctata* submetidas aos herbicidas paraquat e diquat, via contato e ingestão. Dois experimentos foram conduzidos no delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 2 com tratamento adicional, em três repetições. Os tratamentos foram: dois herbicidas (paraquat e diquat), duas doses (50 e 100%) e um tratamento adicional sem exposição ao produto (controle). Cada parcela consistiu em dez indivíduos, expostos aos tratamentos e incubados à 28°C durante 72 horas em ambiente controlado. Para o experimento de ingestão, ambas as doses dos herbicidas resultaram em maior mortalidade de abelhas em relação à condição controle. Ademais, a dose 100% resultou em maior toxicidade comparada à dose 50%. Para a contaminação via contato, não houve aumento na mortalidade das abelhas perante a exposição. Conclui-se que a contaminação por ingestão com os herbicidas paraquat e diquat pode afetar a sobrevivência das abelhas sem ferrão, podendo em longo prazo alterar a viabilidade e a dinâmica das populações das abelhas *Scaptotrigona bipunctata*.

PALAVRAS-CHAVE: Agrotóxicos. Biocontrole. Melíponas. Toxicidade.

MORTALITY OF *Scaptotrigona bipunctata* STINGLESS BEES UNDER THE EFFECTS OF PARAQUAT AND DIQUAT HERBICIDES

ABSTRACT: Bees have essential pollinating activities and are fundamental to the maintenance of the ecosystem since they also pollinate various agricultural systems. There are growing reports about the disappearance of bees, possibly due to the intense use of pesticides, which do not have their effects on biodiversity fully known. Most studies in this area are aimed at understanding the effects of insecticides; however, herbicides can also influence the mortality of pollinating insects. Regarding the paraquat and diquat herbicides, widely used in agriculture, little is known about the effects on non-target organisms, such as bees. This work evaluated the mortality of *Scaptotrigona bipunctata* bees submitted to the paraquat and diquat herbicides via contact and ingestion. Two experiments were conducted in a randomized block design in a 2 x 2 factorial scheme with additional treatment, in three replications. The treatments were: two herbicides (paraquat and diquat), two doses (50 and 100%), and an additional treatment without contamination (control). Each plot consisted of ten individuals exposed to treatments and incubated at 28 °C for 72 hours in a controlled environment. For the ingestion experiment, both doses of the herbicides resulted in higher bee mortality when compared to the control condition. In addition, the 100% dose resulted in greater toxicity when compared to the 50% dose. For contact contamination, there was no increase in bee mortality on exposure. It can be concluded that contamination by ingestion of paraquat and diquat can affect the survival of stingless bees, which in the long term may alter the viability and population dynamics of *Scaptotrigona bipunctata* bees.

KEYWORDS: Biocontrol. Melipons. Pesticides. Toxicity.

DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v24i1cont.2021.8408>

¹ Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP. E-mail: marina.peruzzolo@usp.br

² Departamento de Ciências Agronômicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Palotina, PR.

³ Departamento de Biologia, Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, RO.

MORTALIDAD DE ABEJAS SIN AGUIJÓN *Scaptotrigona bipunctata* BAJO LOS EFECTOS DE LOS HERBICIDAS PARAQUAT Y DIQUAT

RESUMEN: Las abejas ejercen una actividad polinizadora esencial, además de ser fundamentales en el mantenimiento de los ecosistemas, también polinizan varios sistemas agrícolas. Cada vez hay más informes sobre la desaparición de abejas, posiblemente como consecuencia del uso intenso de pesticidas, que no tienen sus efectos sobre la biodiversidad, de hecho, conocidos. La mayoría de los estudios en esta área tienen como objetivo comprender los efectos de los insecticidas, sin embargo, los herbicidas también pueden influir en la mortalidad de los insectos polinizadores. Con respecto a los herbicidas paraquat e diquat, ampliamente utilizados en la agricultura, se sabe poco sobre los efectos que afectan a organismos no objetivo, como las abejas. Esta investigación evaluó la mortalidad de abejas *Scaptotrigona bipunctata* sometidas a herbicidas paraquat y diquat, por contacto e ingestión. Dos experimentos fueron conducidos en el delineamiento de bloques casualizados en esquema factorial 2 x 2 con tratamiento adicional, en tres repeticiones. Los tratamientos fueron: dos herbicidas (paraquat y diquat) dos dosis (50 y 100%) y un tratamiento adicional sin exposición al producto (control). Cada parcela estuvo compuesta por diez individuos, expuestos a tratamientos e incubados a 28°C durante 72 horas en ambiente controlado. Para el experimento de ingestión, ambas dosis de herbicidas resultaron en mayor mortalidad de abejas en comparación con la condición de control. Además, la dosis del 100% resultó en mayor toxicidad en comparación con la dosis del 50%. Para la contaminación por contacto, no hubo un aumento en la mortalidad de las abejas debido a la exposición. Se concluye que la contaminación por ingestión con herbicidas paraquat y diquat puede afectar la supervivencia de las abejas sin aguijón, lo que a largo plazo puede alterar la viabilidad y la dinámica poblacional de las abejas *Scaptotrigona bipunctata*.

PALABRAS CLAVE: Agrotóxicos. Biocontrol. Melipones. Toxicidad.

Introdução

As abelhas brasileiras sem ferrão são responsáveis por 40 a 90% da polinização das árvores nativas, como também exercem importante papel na polinização de várias culturas agrícolas, resultando em benefícios para a agricultura nacional (CHUTTONG *et al.*, 2016; HALINSKI; DORNELES; BLOCHTEIN, 2015). No âmbito global os serviços ecossistêmicos da polinização correspondem a cerca de 10% do PIB agrícola, representando um valor acima de US\$200 bilhões/ano (BARBOSA *et al.*, 2017).

O declínio nas populações de abelhas tem sido relatado e a utilização intensiva de agrotóxicos apontada como um dos principais fatores responsáveis por esse impacto (EVANS *et al.*, 2009; GOMES *et al.*, 2017). O estresse toxicológico causado pelos agroquímicos e suas consequências nas abelhas tem sido intenso foco de debates (CALATAYUD-VERNICH *et al.*, 2019; SGOLASTRA *et al.*, 2020; TOMÉ *et al.*, 2020). No entanto, a ênfase em abelhas melíferas e agrotóxicos têm negligenciado os estudos das abelhas sem ferrão, principais polinizadoras de ecossistemas tropicais naturais (LIMA *et al.*, 2016).

Desde a consolidação das atuais práticas de manejo das lavouras, os polinizadores vêm sendo drasticamente ameaçados por ações antrópicas advindas, principalmente devido ao intenso uso de agentes químicos (HOLDER *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2015; POHORECKA *et al.*, 2017; PRADO *et al.*, 2019). Devido ao alto potencial químico dos defensivos agrícolas, há indícios de que algumas substâncias utilizadas no controle de pragas na agricultura podem estar envolvidas em casos de intoxicação de abelhas (COUSIN *et al.*, 2013). Os efeitos desses produtos podem não ser notados, mas podem causar sérios efeitos fisiológicos e comportamentais, comprometendo os indivíduos e a viabilidade da colônia, de maneira geral (COUSIN *et al.*, 2013; PIRES *et al.*, 2016; TOMÉ *et al.*, 2020).

É sabido que o uso indiscriminado e irracional dos agrotóxicos, especialmente os inseticidas e herbicidas,

pode acarretar no desequilíbrio da população de abelhas que visitam os locais de cultivo (CALATAYUD-VERNICH *et al.*, 2019; MAGAL *et al.*, 2019; MALASPINA *et al.*, 2008; QUIGLEY *et al.*, 2019), contudo é difícil desvendar os reais impactos causados por meio do efeito cumulativo e sinérgico das excessivas aplicações (BRITAIN; POTTS, 2011). Os herbicidas e fungicidas são considerados menos tóxicos para organismos não-alvos, uma vez que não apresentam a mesma rota metabólica de ação que os inseticidas (GISI; SIEROTZKI, 2008). No entanto, a aplicação irracional de defensivos agrícolas pode comprometer a vida dos indivíduos que prestam importantes serviços ambientais (MIGLANI *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2018; THOMPSON, 2003).

Os herbicidas, paraquat e diquat, estão na lista dos produtos mais utilizados em culturas comerciais, implicando em possíveis eventos de mortalidade das abelhas (MINEAU *et al.*, 2008). Tanto o paraquat, quanto o diquat, são produtos considerados altamente persistentes no meio ambiente, demonstrando perigo relativo ao ecossistema como um todo (COATS *et al.*, 1966; MARTINS, 2013). Por isso, em setembro de 2020, ocorreu um processo de avaliação sobre a alta toxicidade do paraquat no meio ambiente, no qual a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) optou pelo banimento do produto (CUENCA, 2020). De acordo com o órgão Public Eye (2017) o produto paraquat já foi proibido em mais de 40 países, sendo ainda liberado em 83 países. Nesse contexto, um produto cotado pelo mercado do agronegócio para substituir o paraquat em seu banimento é o diquat (GOTTEMS, 2018). Contudo, sob o aspecto químico e funcional, os herbicidas paraquat e diquat possuem efeitos similares, suscitando uma indagação sobre efetividade do banimento e consequente substituição.

Em decorrência da escassez em estudos sobre os efeitos adversos dos herbicidas e outros pesticidas em abelhas sem ferrão (SOARES, 2012) e dos poucos trabalhos realizados mostrando que há susceptibilidade a ação dos agroquímicos (VALDOVINOS-NÚÑEZ *et al.*, 2009), é importante que pesquisas sejam realizadas com organismos não alvo (ARCHER *et al.*, 2014; BALLANTYNE *et al.*,

2017; KNIGHT *et al.*, 2018; PEREIRA, 2010; WINFREE *et al.*, 2018), visto que há poucas informações sobre os efeitos dos defensivos agrícolas, não alvos, em geral sobre os polinizadores (PINHEIRO; FREITAS, 2010). Tendo em vista a relevância das abelhas sem ferrão como agentes polinizadores e o importante serviço prestado pela meliponicultura aos sistemas agrícolas, visitam importantes culturas econômicas no cenário nacional como café, laranja, tomate (MARQUES *et al.*, 2015), bem como, há registros em monoculturas de interesse econômico internacional como a soja (BARBIERI *et al.*, 2020; BLETTLER *et al.*, 2019; CHIARI *et al.*, 2008; VOSSLER *et al.*, 2018), se faz fundamental o estudo dos efeitos que os agroquímicos podem causar nas abelhas sem ferrão. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a mortalidade de abelhas sem ferrão da espécie *Scaptotrigona bipunctata* submetidas à ingestão e ao contato dos herbicidas paraquat e diquat em diferentes doses.

Material e Métodos

As abelhas operárias adultas de *Scaptotrigona bipunctata*, foram coletadas de colônias localizadas no meliponário da Universidade Federal do Paraná - UFPR, no município de Palotina, Paraná. As abelhas capturadas foram expostas a diferentes concentrações dos herbicidas paraquat e diquat via contato e ingestão.

As concentrações utilizadas dos herbicidas paraquat e diquat foram 276 g.i.a/L de dicloreto de paraquate e 200 g.i.a/L dibrometo de diquate, respectivamente. Os produtos foram diluídos até a obtenção das concentrações, correspondentes a 50% e 100% da concentração do ingrediente ativo recomendada na bula dos produtos para a utilização nas culturas da soja e do milho.

Os bioensaios foram montados conforme Pereira (2008) com pequenas adaptações. Os indivíduos foram capturados das caixas de criação mantidas no apiário, foram colocadas 10 operárias, em diferentes idades, em cada frasco de vidro correspondente a cada tratamento e tampados com tecido *voil*. Dentro de cada frasco, de aproximadamente 500 mL, havia um papel filtro embebido com o herbicida em teste, quando na exposição via contato, bem como, um recipiente com algodão úmido (oferta de água) e um recipiente com o alimento *candy* (açúcar de confeitiro e mel), sem contaminação. Quanto ao bioensaio via ingestão apenas o alimento foi preparado com o herbicida em questão, enquanto o papel filtro e o algodão úmido estavam livres de contaminação (Figura 1). Para o controle os frascos não continham nenhum material exposto aos herbicidas. Os frascos foram mantidos separados dentro de uma câmara incubadora (B.O.D) com temperatura à 28°C e \pm 75% de umidade, ambos os fatores controlados, durante as quantidades de dias determinadas para cada teste. Após 72h de duração da exposição os indivíduos foram coletados e contabilizados as mortes. Após a finalização dos testes, os indivíduos sobreviventes foram anestesiados em baixa temperatura (-20 °C) e sacrificados.

Figura 1: Demonstração do ensaio experimental, cada frasco de vidro corresponde a um tratamento, contendo alimento, água, oferecida por meio de um algodão umedecido, disco de papel filtro (quando o experimento realizado por meio da exposição via contato, o mesmo era previamente embebido nas diferentes concentrações dos herbicidas). Frascos cobertos com tecido *voil*, permitindo passagem de ar.



Fonte: Arquivo pessoal

Ambos os experimentos, avaliando ingestão e contato, foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados, contendo três repetições e contendo dez indivíduos por unidade amostral. Os experimentos foram conduzidos sob esquema fatorial 2 x 2 com um tratamento adicional. Os fatores testados foram os produtos paraquat e diquat e as doses 50 e 100%, além do controle, sem a exposição aos herbicidas.

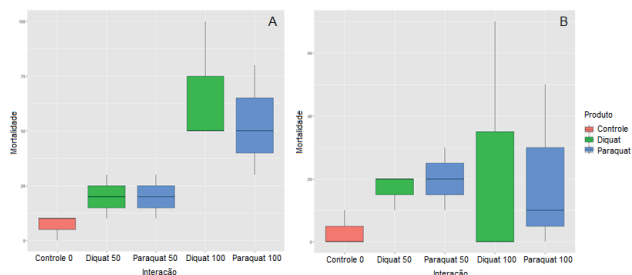
Para a análise estatística dos dados do percentual de mortalidade de *S. bipunctata* por contato e por ingestão, primeiramente foram examinados os pressupostos da análise de variância. Para isso foram utilizados os testes de *Bartlett* (heterocedasticidade) e de *Shapiro-Wilk* (normalidade dos resíduos) a 5% de significância. Os dados foram então analisados pela análise de variância (ANOVA) a 5% de significância pelo teste F. Quando observadas as significâncias, as médias foram comparadas entre si pelo teste *Tukey* a 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando o pacote Exp. Des do *software* R.

Resultados e Discussão

Experimento de mortalidade por ingestão

Considerando a mortalidade de *S. bipunctata* por ingestão, não foi observado efeito significativo para a interação Produto*Dose, para o efeito de bloco e para o efeito simples de produto. Porém, foi observada significância para o efeito do fatorial em relação ao controle (Controle x Fatorial) e para o fator dose (Tab. 1), demonstrando que a mortalidade de *S. bipunctata* quando submetidas à exposição por qualquer um dos produtos em qualquer dose (40%), foi superior a mortalidade do tratamento controle (6,67%), sem a exposição das abelhas ao produto (Tabela 2 e Figura 2A).

Figura 2: Mortalidade (%) de *S. bipunctata* sob contaminação por ingestão (A) e contato (B) com os herbicidas diquat (verde) e paraquat (azul) nas concentrações 50 e 100% da dose comercial e ao tratamento controle, sem contaminação.



A ausência de significância para o efeito simples do Produto demonstrou que os herbicidas paraquat e diquat apresentaram efeito similar sobre a mortalidade de *S. bipunctata* (Tabela 1, Tabela 2 e Figura 2A), o que é justificado pelas suas composições químicas, que possuem aproximada disposição molecular (FREITAS; PINHEIRO, 2010; MARTINS, 2013).

Tabela 1: Análise de variância da mortalidade de *S. bipunctata* submetida à contaminação por ingestão de paraquat e diquat em diferentes doses.

| FV | GL | SQ | QM | F | P |
|---------------------|----|--------|--------|--------|---------|
| Bloco | 2 | 893.33 | 446.67 | 1.4255 | 0.2954 |
| Produto | 1 | 133.33 | 133.33 | 0.4255 | 0.5325 |
| Dose | 1 | 4800 | 4800 | 15.319 | 0.0045* |
| Produto*Dose | 1 | 133.33 | 133.33 | 0.4255 | 0.5325 |
| Controle x Fatorial | 1 | 2666.7 | 2666.7 | 8.5106 | 0.0194* |
| Resíduo | 8 | 2506.7 | 313.33 | | |
| Total | 14 | 11133 | | | |

CV = 6.0 %

FV: Fonte de variação, GL: Graus de liberdade, SQ: Soma de quadrados, QM: Quadrado médio, F: Valor da estatística F, p: p valor (*p<0,05)

Tabela 2: Médias do percentual de mortalidade de *S. bipunctata* submetida à contaminação por contato e ingestão de paraquat e diquat em diferentes doses e ao tratamento controle.

| Dose/ produto | Contato | | Ingestão | |
|------------------|----------|--------|----------|----------|
| | Paraquat | Diquat | Paraquat | Diquat |
| 50 | 20 | 16,67 | 20 aA | 20 aA |
| 100 | 20 | 23,33 | 53,33 aB | 66,67 aB |
| Controle | 6,67 | | 6,67* | |

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas nas colunas, ou minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste Tukey, a 5% de significância. *Média do tratamento controle difere em relação à média do fatorial (p<0,01).

O paraquat pertence ao grupo químico dos bipiridílio, relacionado com a formação de radicais superóxidos (O_2^-), resultando na formação de peróxido de hidrogênio, danificando membranas do cloroplasto e células

(VIDAL, 1997). O diquat também pertence a esse grupo agindo na degradação das membranas, em poucos dias causam necrose pela dessecação dos tecidos (MARCHI *et al.*, 2008). Esses herbicidas têm habilidade de funcionar como aceptores de elétrons no fotossistema I (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001), esses elétrons são a fonte de energia para os processos biossintéticos celulares, quando os herbicidas paraquat e diquat estão presentes interagem com a ferredoxina, competindo com o NADP+ como aceptores de elétrons (MARCHI *et al.*, 2008).

Em geral os herbicidas e fungicidas possuem mecanismos de ação específicos, assim, em decorrência dessa especificidade, poucos trabalhos ainda são realizados estudando os efeitos dos herbicidas em abelhas. O fato de os herbicidas não aparentarem risco aos insetos, não os torna alvo de experimentos mais aprofundados, apenas são tratados os possíveis efeitos sub-letais (FREITAS; PINHEIRO, 2010).

Morton *et al.* (1974) observaram a influência dos herbicidas em colônias de abelhas, no qual a mistura água e paraquat (1000 ppm) matou um grande número de abelhas imediatamente e o restante morreu até a quinta semana. O herbicida diquat também desencadeia estresse oxidativo e pode se acumular no sistema nervoso de rãs, camundongos e também de abelhas (LINDQUIST; LARSSON; SOKOLOWSKI, 1988).

Em outras espécies de insetos o paraquat já foi estudado e demonstrou ser um potente indutor de estresse oxidativo. A exposição a esse herbicida por 12 horas foi altamente letal para *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera, Drosophilidae). A fim de caracterizar o potencial do NAPH como mecanismo de toxicidade, Bus e Gibson (1984), mediram diretamente as concentrações de NAPH e NADP em ratos tratados com paraquat e diquat, o tratamento com o bipiridilíio produziu diminuições similares na relação NADPH/NADP.

O efeito significativo de dose indica que as concentrações utilizadas apresentaram efeitos diferentes em relação à mortalidade das abelhas. As médias das doses de 50% e 100% da concentração de i.a. recomendada foram comparadas entre si por meio do teste Tukey a 5% de significância, onde se pode observar uma mortalidade superior na dose 100% em relação à dose 50%.

Na média da dose 100% de ambos os produtos, a mortalidade foi de 60%, enquanto, quando foi utilizada meia dose, a mortalidade média dos produtos foi de 20% (Tabela 3 e Figura 2A). Esse resultado confirma a hipótese de que a dose maior possui um maior impacto sobre as mortes de *S. bipunctata* por ingestão de paraquat e diquat. Pereira (2010) realizando um experimento similar com *S. bipunctata*, onde os indivíduos foram contaminados por ingestão com o inseticida natural azadiractina, observou que a concentração teve um efeito significativo na mortalidade das abelhas. Ao examinar os efeitos toxicológicos de pesticidas, Tomé *et al.* (2013) não observaram mortalidade significativa nas abelhas das espécies *Partamona helleri* [Friese, 1900], e *Scaptotrigona xanthotricha* [Moure, 1950], independente da dose. Isso demonstrou que as diferentes espécies de abelhas possuem potenciais de detoxificação variados (DORNELES, 2015), evidenciando a importância do estudo dos efeitos dos

agrotóxicos em diferentes espécies de abelhas, considerando todo o espectro das diversidades morfológicas e fisiológicas.

Tabela 3: Análise de variância da mortalidade de *S. bipunctata* submetida à contaminação por contato de paraquat e diquat em diferentes doses.

| FV | GL | SQ | QM | F | P |
|---------------------|----|----------|---------|---------|--------|
| Bloco | 2 | 878,8 | 439,4 | 0,857 | 0,46 |
| Produto | 1 | 0,0833 | 0,0833 | 2,0E-04 | 0,9901 |
| Dose | 1 | 36,75 | 36,75 | 0,0717 | 0,7957 |
| Produto*Dose | 1 | 30,083 | 30,083 | 0,0587 | 0,8147 |
| Controle x Fatorial | 1 | 660,016 | 660,016 | 1,2173 | 0,2894 |
| Resíduo | 8 | 4101,867 | 512,733 | | |
| Total | 14 | 5707,6 | | | |

CV = 14.76 %

FV: Fonte de variação, GL: Graus de liberdade, SQ: Soma de quadrados, QM: Quadrado médio, F: Valor da estatística F, p: p valor. (*p<0.05).

Experimento de Mortalidade por Contato

Considerando a análise de variância da mortalidade de *S. bipunctata* por contato, não houve efeito significativo para a interação Produto*Dose, bem como para os efeitos simples de bloco, produto e doses. Da mesma forma, não foi verificado efeito significativo para o efeito do fatorial em relação ao controle (Controle x Fatorial) (Tab. 3).

Comparando os herbicidas, a diferença verificada entre os produtos diquat e paraquat para as doses 50 e 100% foi apenas 3,33 e -3,33% respectivamente (Figura 2B). Como também, a diferença da mortalidade entre as doses 50 e 100% para o produto diquat foi de apenas 6% e para o produto paraquat a mortalidade foi igual em ambas as doses (20%) (Figura 2B).

Quando se considera a diferença entre o controle, ausência de herbicida, e os tratamentos com os produtos nas diferentes doses, apesar de os gráficos poderem sugerir alguma diferença, esta não foi suficiente para que a estatística permitisse declarar um efeito significativo (Tab. 3 e Figura 2B). Assim, tanto nos indivíduos do grupo controle, quanto aos submetidos aos pesticidas, não houve diferença em suas taxas de mortalidade, ou seja, não houve aumento significativo na mortalidade de *S. bipunctata* em razão do contato com paraquat e diquat em todas as doses testadas.

As diferenças apresentadas entre contato e ingestão podem ser associadas a diferenças nas características morfológicas, fisiológicas e específicas dos indivíduos (BRITAIN; POTTS, 2011; DEL SARTO *et al.*, 2014), uma diferença expressiva relacionada à espécie e sua baixa mortalidade via contato, é a cutícula espessa e o peso corporal das abelhas, com isso, pode haver variações na taxa de penetração do produto pela cutícula (AHMAD; JOHANSEN, 1973; GUEDES *et al.*, 2002). Nas abelhas sem ferrão a cutícula consiste em várias classes de compostos químicos, formando uma camada externa lipídica. Esses compostos são determinados geneticamente e podem variar entre as espécies (ABDALLA *et al.*, 2003; DORNELES *et*

al., 2017; WENZEL *et al.*, 2015) podendo facilitar, ou não, a penetração dos pesticidas na cutícula, causando maior toxicidade de acordo com a espécie de abelha. Sendo assim, como a *S. bipunctata*, apresenta uma cutícula mais espessa em relação às espécies *Tetragonisca fibriegi* [Schwarz, 1938], e *Tetragonisca angustula* [Latreille, 1811] (DORNELES *et al.*, 2017) e espessura semelhante às espécies *Melipona marginata* [Lepeletier, 1836], e *Melipona bicolor* [Lepeletier, 1836], essa pode servir como um tipo de barreira física para a penetração do agente tóxico (BLOCHTEIN *et al.*, 2008).

Quanto ao peso corporal, o qual pode conferir forte influência na suscetibilidade das abelhas, tanto em contaminação oral, como tópica, sugere-se que abelhas com maior peso poderiam ser mais tolerantes que as espécies com menor peso. Há exemplo, uma operária de *S. bipunctata* pode chegar a pesar 19 mg, enquanto uma operária de *T. fiebrigi* pesa em média 5mg, conferindo maior tolerância da *S. bipunctata* aos pesticidas (DORNELES *et al.*, 2017). É possível considerar que a suscetibilidade está diretamente relacionada com as relações de superfície e volume das espécies das abelhas (JOHANSEN, 1972).

A diferença de suscetibilidade, comparando a exposição aos agroquímicos por ingestão e contato pode ser atribuído a inúmeros fatores. Diferentemente dos resultados reportados aqui, em *Apis mellifera* já foi relatada a maior susceptibilidade quando a exposição à neonicotinoides ocorreu via tópica. Os autores atribuem esse fenômeno à capacidade de detoxificação dessas abelhas, já que a toxicidade de alguns produtos pode ser reduzida quando enzimas detoxificadoras presentes no sistema digestório das mesmas conseguem agir em relação às determinadas concentrações de agrotóxicos (DEL SARTO *et al.*, 2014). Contudo, pesquisas com agrotóxicos, utilizando metodologia semelhante àquela aqui descrita, têm demonstrado que as abelhas sem ferrão são mais sensíveis por exposição oral, comparadas à exposição tópica e também quando comparadas à *Apis mellifera* (DORNELES *et al.*, 2017).

Segundo Dorneles *et al.* (2017), para as forrageiras de *S. bipunctata* não houve diferença significativa entre a ingestão e a exposição tópica para pesticidas, no entanto, em outra espécie de abelha sem ferrão, *T. fiebrigi* os produtos agroquímicos se mostraram mais tóxicos quando administrados oralmente. Essa diferença pode estar relacionada com o grau de toxicidade dos pesticidas e o modo de ação de cada um, atrelado ao modo que o metabolismo de cada indivíduo trabalha para realizar a defesa dos compostos tóxicos (CELLI; MACCAGNANI, 2017; STEVENSON, 1978). O próprio metabolismo celular pode gerar espécies reativas de oxigênio, mas a taxa de produção aumenta muito se os tecidos forem expostos a fatores ambientais como o herbicida paraquat. O dano tecidual causado pelo aumento dos radicais livres e espécies reativas de oxigênio, os quais são instáveis e reagem rapidamente com ácidos graxos, provocam lesão nas membranas, proteínas, DNA e morte celular (MARTINS, 2013).

Análise das respostas à toxicidade por apresentarem significativa divergência, reforçam a importância de analisar as duas vias de exposição: oral e tópica, pois em locais onde as abelhas forrageiras, expostas aos agrotóxicos, a absorção desses produtos pode ocorrer por meio da ingestão de pólen

e néctar com resíduos de pesticidas, ou mesmo via o contato tóxico (JOHNSON *et al.*, 2010; MULLIN *et al.*, 2010).

Quando os produtos químicos são aplicados, partículas em suspensão são mantidas no ar por um período de tempo e favorecem o contato com o corpo das abelhas (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008), sendo carregadas ao ninho e possibilitando a contaminação do alimento. Ademais, os efeitos nocivos exercidos pelo uso intensivo dos herbicidas vão além da morte direta dos indivíduos, podendo indiretamente acarretar em mudanças no hábitat e modificações químicas da colônia (BELDEN; LYDY, 2000).

É válido considerar, que a toxicidade dos agrotóxicos observada em experimentos laboratoriais podem variar entre a realidade observada nos sistemas agrícolas (CELLI; MACCAGNANI, 2017), visto que há outros fatores, os quais podem ser determinantes, no entanto, não podem ser repetidos, pois variam de aplicação a aplicação e suas condições. A suscetibilidade em áreas agrícolas depende de outras condições, como os fatores abióticos, tempo de degradação dos agrotóxicos, correta aplicação segundo as recomendações do fabricante e comportamento das abelhas (GRADISH; SCOTT-DUPREE; CUTLER, 2012). Dessa forma, as diferenças observadas entre a suscetibilidade das abelhas nativas em relação aos herbicidas, doses testadas e em relação à outras espécies, inclusive *A. mellifera*, ratifica a importância de se realizar testes de toxicidade em diversas espécies de abelhas, bem como, incluir abelhas nativas em testes exigidos para a autorização de registro e uso de agrotóxicos, os quais são prioritariamente realizados em *A. mellifera*, porém, também afetam as abelhas nativas (ARENA; SGOLASTRA, 2014; BRITAIN; POTTS, 2011; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Conclusão

A mortalidade das abelhas da espécie *S. bipunctata* é afetada pela ingestão dos herbicidas paraquat e diquat. Contudo, esses herbicidas não diferem entre si para a mortalidade dos indivíduos. O incremento de 50% para 100% nas doses acarretou no aumento do número de abelhas mortas para ambos os herbicidas.

Considerando a contaminação por contato, as abelhas da espécie *S. bipunctata* não tiveram sua mortalidade afetada diante da exposição aos herbicidas paraquat e diquat em todas as concentrações testadas.

Referências

ABDALLA, F. C. *et al.* Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 2, p. 191-199, 2013. doi: 10.2514/3.3997.

AHMAD, C.; JOHANSEN, C. Selective toxicity of carbofenthothion and trichlorfon to the honeybee. **Environmental Entomology**, v. 2, n. 1, p. 27-30, 1973.

ARCHER, C. R. *et al.* Economic and ecological

implications of geographic bias in pollinator ecology in the light of pollinator declines. **Oikos**, v. 123, n. 4, p. 401-407, 2014. doi: 10.1111/j.1600-0706.2013.00949.x

ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 324-334, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1190-1>

BALLANTYNE, G. *et al.* Pollinator importance networks illustrate the crucial value of bees in a highly speciose plant community. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-13, 2017. doi:10.1038/s41598-017-08798-x

BARBIERI, C.; FRANCOY, T. M. Modelo teórico para análise interdisciplinar de atividades humanas: A meliponicultura como atividade promotora da sustentabilidade. **Ambiente e Sociedade**, v. 23, 2020. doi: 10.1590/1809-4422asoc20190020r2vu2020L4AO.

BARBOSA, D. B. *et al.* As abelhas e seu serviço ecossistêmico de polinização. **Revista Eletrônica Científica**, v. 4, n. 4, p. 694-703, 2017. <https://doi.org/10.21674/2448-0479.34.694-703>

BELDEN, J. B.; LYDY, M. J. Impact of atrazine on organophosphate toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 2266-2274, 2020. doi: 10.1002/etc.5620190917

BLETTLER, D.; FAGÚNDEZ, G.; CHEMEZ, D. Abejas y cultivos de soja. **Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción**, v. 28, n. 165, 2019.

BLOCHTEIN, B. *et al.* **Manual de boas práticas para a criação e manejo racional de abelhas sem ferrão no RS**. Porto Alegre, 2008. EDIPUCRS.

BRITAIN, C.; POTTS, S. G. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. **Basic and Applied Ecology**, v. 12, n. 4, p. 321-331, 2011. doi: 10.1016/j.baae.2010.12.004

BUS, J. S.; GIBSON, J. E. Paraquat: Model for oxidant-initiated toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 55, p. 37-46, 1984. doi: 10.1289/ehp.845537.

CALATAYUD-VERNICH, P. *et al.* A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: high honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. **Chemosphere**, v. 232, p. 471-480, 2019. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.170.

CELLI, G.; MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 137-139, 2017.

CHIARI, C. W. *et al.* Polinização por ação por *Apis mellifera* em soja transgênica [*Glycine max*(L.) Merrill]

- Roundup Ready™ cv. BRS 245 RR e convencional cv. BRS 133. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 267-271, 2008.
- CHUTTONG, B. *et al.* Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). **Food Chemistry**, v. 192, p. 149-155, 2016. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.089
- COATS, G. E. *et al.* Factors affecting persistence and inactivation of diquat and paraquat. **Weed Research**, v.6, n. 1, p. 58-66, 1966. doi: 10.1111/j.1365-3180.1966.tb00867.x.
- COUSIN, M. *et al.* Size Changes in honey bee larvae oenocytes induced by exposure to paraquat at very low concentrations. **PLoS ONE**, v. 8, n.5, e65693, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0065693
- CUENCA, P. **Paraquat: A Anvisa confirma a proibição de uso e venda a partir de 22 de setembro**. Canal Rural Disponível em: <http://www.canalrural.com.br/agronegocio/definitivo-paraquat-proibido-22-setembro/1>. Acesso em: 17 nov. 2020.
- DEL SARTO, M. C. L. *et al.* Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 45, n. 5, p. 626-636, 2014. doi: 10.1007/s13592-014-0281-6
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 81-106, 2007. doi: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440.
- DORNELES, A. L.; ROSA, R. S.; BLOCHTEIN, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, v. 48, p. 612-620, 2017. doi: 10.1007/s13592-017-0502-x.
- EVANS, J. D. *et al.* Colony collapse disorder: a descriptive study. **PloS One**, v. 4, n. 8, 2009.
- FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 282-298, 2010. doi: 10.4257/oeco.2010.1401.17.
- GISI, U. & SIEROTZKI, H. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. **The Downy Mildews - Genetics, Molecular Biology and Control**, p.157-167, 2008. doi: 10.1007/978-1-4020-8973-2_12.
- GOMES, V. V. *et al.* Evaluation of the quality of honey commercialized in Western Pará, Brazil. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n.2, p. 815-826, 2017. doi: 10.21577/1984-6835.20170050.
- GOTTEMS, L. **Diquat pode substituir paraquat no Brasil**. Agrolink, 2018. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/diquat-pode-substituir-paraquat-no-brasil_411105.html. Acessado em: nov. 2019.
- GRADISH, A. E.; SCOTT-DUPREE, C. D.; CUTLER, G. C. Susceptibility of *Megachile rotundata* to insecticides used in wild blueberry production in Atlantic Canada. **Journal of Pest Science**, v. 85, n. 1, p. 133-140, 2012. doi: 10.1007/s10340-011-0391-0.
- HALINSKI, R.; DORNELES, A. L.; BLOCHTEIN, B. Bee assemblage in habitats associated with *Brassica napus* L. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 3, p. 222-228, 2015. doi: 10.1016/j.rbe.2015.07.001.
- HOLDER, P. J. *et al.* Fipronil pesticide as a suspect in historical mass mortalities of honey bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 51, p.13033-13038, 2018. doi: 10.1073/pnas.1804934115.
- ISERING, R. Adverse health effects caused by paraquat: A bibliography of documented evidence. **Public Eye**, February, 2017. Disponível em: http://www.publiceye.ch/fileadmin/doc/Pestizide/2017_PublicEye_Adverse_Health_Effects_Paraquat_Bibliography.pdf. Acesso em: set. 2019.
- JOHANSEN, C. A. Toxicity of field-weathered insecticide residues to four kinds of bees. **Environmental Entomology**, v. 1, n. 3, p. 393-394, 1972. doi: 10.1093/ee/1.3.393.
- JOHNSON, R. M. *et al.* Pesticides and honey bee toxicity – USA. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 312-331, 2010. doi: 10.1051/apido/2010018.
- KNIGHT, T. M. *et al.* Reflections on, and visions for, the changing field of pollination ecology. **Ecology Letters**, v. 21, n. 8, p. 1282-1295, 2018. doi: 10.1111/ele.13094.
- LEONHARDT, S. D. *et al.* Potential role of environmentally derived cuticular compounds in stingless bees. **Chemoecology**, v. 25, n. 4, p. 159-167, 2015. doi: 10.1007/s00049-015-0185-6.
- LIMA, M. A. P. *et al.* Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 202, n. 9-10, p. 733-747, 2016. doi: 10.1007/s00359-016-1110-3.
- LINDQUIST, N. G.; LARSSON, B. S.; SOKOLOWSKI, A. Autoradiography of [¹⁴C]paraquat or [¹⁴C]diquat in frogs and mice: Accumulation in neuromelanin. **Neuroscience Letters**, v. 93, n. 1, p. 1-6, 1988. doi: 10.1016/0304-3940(88)90002-X.
- MAGAL, P.; WEBB, G. F.; YIXIANG WU. An environmental model of honey bee colony collapse due to pesticide contamination. **Bulletin of Mathematical Biology**, v. 81, p. 4908-4931, 2019. doi: 10.1007/s11538-

019-00662-5.

MALASPINA, O. *et al.* Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. *In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS*, 8., 2008, Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto: FUNPEC, Universidade de São Paulo, 2008. p. 41-48.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. **Herbicidas: Mecanismos de ação e uso.** Planaltina, 2008. Circular Técnica, EMBRAPA Cerrados, DF.

MARQUES, M. F. *et al.* **Polinizadores na agricultura: Ênfase em abelhas.** 1 ed. Rio de Janeiro: Funbio, 2015. 40 p.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modos de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências Biológicas e Da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175, 2013. doi: 10.5433/1679-0367.2013v34n2p175.

MIGLANI, R. *et al.* Pesticide toxicity to insect pollinators with concern to declining population of honey-bees (Insecta: Hymenoptera). **Experimental Animal Science - Birds and Insects**, p. 247-255, 2020. ISBN: 978-93-88854-46-7.

MINEAU, P. *et al.* Using reports of bee mortality in the field to calibrate laboratory-derived pesticide risk indices. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 2, p. 546-554, 2008. doi: 10.1603/0046-225X.

MORTON, H. L.; MOFFETT, J. O.; MARTIN, R. D. Influence of water treated artificially with herbicides on honey bee colonies. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 5, p. 808-812, 1974. doi: 10.1093/ee/3.5.808.

MULLIN, C. A. *et al.* High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3., 2010. doi: 10.1371/journal.pone.0009754.

OLIVEIRA, A. C.; JUNQUEIRA, C. N.; AUGUSTO, S. C. Pesticides affect pollinator abundance and productivity of sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 1, p. 2-8, 2018. doi: 10.1080/00218839.2018.1494441.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas Daninhas e Seu Manejo.** Guaíba - RS, 2001. Circular Técnica, Agropecuária, EMPRAPA Soja, 362p.

OLIVEIRA, E. E. *et al.* Seletividade de inseticidas a *Theocolax elegans* parasitóide de *Sitophilus zeamais*. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 2, p.11-16, 2002.

PEREIRA, A. M. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas.** 2010. 124f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Curso de Pós-graduação em Zoologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

PINHEIRO, J. N.; FREITAS, B. M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 266-281, 2010. doi: 10.4257/oeco.2010.1401.16.

PIRES, C. S. S. *et al.* Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.51, 422-442, 2016. doi: 10.1590/S0100-204X2016000500003.

POHORECKA, K. *et al.* The exposure of honey bees to pesticide residues in the hive environment with regard to winter colony losses. **Journal of Apicultural Science**, v. 61, n. 1, p. 105-125, 2017. ISSN 2299-4831. doi: 10.1515/jas-2017-0013.

PRADO, A. *et al.* Exposure to pollen-bound pesticide mixtures induces longer-lived but less efficient honey bees. **Science of The Total Environment**, v. 650, n. 1, p. 1250-1260, 2019. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.102.

QUIGLEY, T. P.; AMDAM, G. V.; HARWOOD, G. H. Honey bees as bioindicators of changing global agricultural landscapes. **Current Opinion in Insect Science**, v. 35, p. 132-137, 2019, ISSN 2214-5745, doi: 10.1016/j.cois.2019.08.012.

SGOLASTRA, F. *et al.* Bees and pesticide regulation: Lessons from the neonicotinoid experience. **Biological Conservation**, v. 241, 2020. ISSN: 0006-3207. doi: 10.1016/j.biocon.2019.108356.

SOARES, H. M. **Avaliação dos efeitos do inseticida imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** 2012. 87 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2012.

STEVENSON, J. H. The Acute Toxicity of Unformulated Pesticides to Worker Honey Bees (*Apis mellifera* L.). **Plant Pathology**, v. 27, n. 1, p. 38-40, 1978. doi: 10.1111/j.1365-3059.1978.tb01070.x.

THOMPSON, H. M. Behavioural effects of pesticides in bees—their potential for use in risk assessment. **Ecotoxicology**, v.12, n. 1/4, p. 317-330, 2003. doi: 10.1023/a:1022575315413.

TOMÉ, H. V. V. *et al.* Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. **Crop Protection**, v. 46, p. 63-69, 2013. doi: 10.1016/j.cropro.2012.12.021.

TOMÉ, H. V. V. *et al.* Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees. **Environmental Pollution**, v. 256, 2020. ISSN 0269-7491, doi: 10.1016/j.envpol.2019.113420.

VALDOVINOS-NÚÑEZ, G. R. *et al.* Comparative toxicity

of pesticides to stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 5, p. 1737–1742, 2009. doi: 10.1603/029.102.0502.

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997, 165p.

VOSSLER, F. *et al.* **Stingless bees as potential pollinators in agroecosystems in Argentina: inferences from pot-pollen studies in natural environments**. *In: Pot-pollen in stingless bee melittology*. 2018. p. 155-175. doi: 10.1007/978-3-319-61839-5_12.

WINFREE, R. *et al.* Species turnover promotes the importance of bee diversity for crop pollination at regional scales. **Science**, v. 359, n. 6377, p. 791-793, 2018. doi: 10.1126/science.aao2117.

WOLFF, L. F.; REIS, V. D. A.; SANTOS, R. S. S. **Abelhas melíferas: bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica**. Pelotas - RS, 2008. EMBRAPA. doi: 1806-9193.

Recebido em: 02.06.2021

Aceito em: 05.07.2021