

## Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental



ISSN 1517-3135

Março, 2008

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Amazônia Ocidental  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 58**

# **Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental**

*Ricardo Lopes  
Luadir Gasparotto  
Lucinda Carneiro Garcia  
Marcos Vinícius Bastos Garcia  
Marinice Oliveira Cardoso  
Nelcimar Reis Sousa*  
Editores Técnicos

Embrapa Amazônia Ocidental  
Manaus, AM  
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Amazônia Ocidental**

Rodovia AM-010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara  
Caixa Postal 319  
Fone: (92) 3621-0300  
Fax: (92) 3621-0320  
www.cpa.embrapa.br/sac/

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*  
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*  
Membros: *Carlos Eduardo Mesquita Magalhães*  
*Cheila de Lima Bojink*  
*Cintia Rodrigues de Souza*  
*José Ricardo Pupo Gonçalves*  
*Luis Antonio Kioshi Inoue*  
*Marcos Vinícius Bastos Garcia*  
*Maria Augusta Abtibol Brito*  
*Paula Cristina da Silva Ângelo*  
*Paulo César Teixeira*  
*Regina Caetano Quisen*

Revisor de texto: *Carlos Eduardo M. Magalhães/Síglia Regina dos Santos Souza*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Fotos da capa: *Maria José Tupinambá*

**1ª edição**

1ª gravação em CD-Room (2008): 50

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Cip-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Amazônia Ocidental.**

---

Lopes, Ricardo et al.

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa  
Amazônia Ocidental / (editado por) Ricardo Lopes et al.  
- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.  
154 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 58).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

# Ensaio de Toxicidade Aguda de *Parathion metil* para Abelhas em Condições Tropicais

---

Suzy Pinheiro  
Fabianne M. da Silva  
Marcos V.B. Garcia  
Terezinha B. Garcia

## Resumo

Na Região Tropical, dados sobre a toxicidade de inseticidas às espécies de abelhas nativas são escassos. Estudos sobre a sensibilidade de abelhas aos inseticidas foram feitos na maioria para a espécie introduzida *Apis mellifera*, quando do registro dos agrotóxicos para comercialização. Portanto, o maior desafio ao uso de abelhas para polinização em cultivos agrícolas está na difícil conciliação dessa tecnologia com as aplicações de inseticidas. Neste estudo avaliou-se em laboratório a toxicidade aguda (OECD 214) do inseticida Parathion metil à espécie de abelha nativa *Melipona seminigra* e para *Apis mellifera*. Resultados indicam maior sensibilidade da espécie nativa ao Parathion metil. A alta mortalidade no controle após 24 horas de incubação foi uma limitação observada durante o uso do método de teste de toxicidade aguda tópica para abelhas.

**Termos para indexação:** ecotoxicologia, pesticidas, *Melipona*, *Apis*.

## Introdução

Para a avaliação do risco de substâncias químicas para o ambiente, vários organismos indicadores são utilizados. Testes toxicológicos são feitos com organismos que representam os compartimentos ambientais terrestre e aquático. Para o ambiente terrestre, além de outros organismos (minhocas, por exemplo), as abelhas são importantes

indicadores. Atualmente, a espécie de abelha *Apis mellifera* é utilizada internacionalmente como espécie-teste padrão. Quando novos produtos químicos (e.g. agrotóxicos) são fabricados, estes só podem ser autorizados para uso ambiente quando o risco às abelhas (dentre outros organismos) não ocorra ou possa ser mitigado. O processo de avaliação de risco para os organismos se inicia com testes de toxicidade em laboratório para determinação da dose letal mediana ( $DL_{50}$ ) e se estende para o campo em ensaios mais próximos da situação real. O valor da  $DL_{50}$  aguda por contato será usado para determinar as frases de advertência que serão usadas no rótulo e na bula.

Dados sobre a toxicidade de inseticidas às abelhas são escassos e na maioria foram feitos para a espécie introduzida *A. mellifera*, quando do registro dos agrotóxicos para comercialização. Estudos sobre a sensibilidade das espécies de abelhas nativas tropicais aos inseticidas são raros (e.g. Moraes et al., 2000). Portanto, o maior desafio para o uso de abelhas para polinização em cultivos agrícolas está na difícil conciliação desta tecnologia com as aplicações de pesticidas. Neste trabalho foi avaliada a sensibilidade da espécie de abelha *Melipona seminigra*, nativa da Amazônia, ao inseticida Parathion metil. Além disso, foi comparada a sensibilidade das espécies de abelhas *A. mellifera* e *M. seminigra* ao inseticida Parathion metil, bem como testado o protocolo padrão de toxicidade para abelhas para a espécie nativa *M. Seminigra*.

## Material e Métodos

A determinação da dose letal do inseticida Parathion metil foi feita conforme o protocolo OECD n°. 214 (OECD, 1998). Esse método descreve o procedimento padrão para avaliação da toxicidade aguda por contato, de agrotóxicos e outras substâncias químicas, para operárias adultas de abelhas. O ensaio de toxicidade foi feito com a formulação comercial Folidol 600® (60 % de Parathion metil), com o seguinte procedimento:

- Em colônias de atividade normal, foram selecionadas 120 operárias, sendo separadas em grupos de 20 indivíduos em cada tratamento e no controle.
- Os testes foram feitos em 5 concentrações (tratamentos) e controle, em 4 repetições e com 5 indivíduos por repetição, em um total de 120 abelhas.

- Abelhas coletadas foram anestesiadas com aplicação de gás carbônico, a fim de permitir a manipulação durante a aplicação do inseticida.
- Abelhas anestesiadas foram individualmente tratadas por aplicação tópica na parte superior do tórax, com 1  $\mu\text{L}$  da solução do inseticida.
- Após a aplicação, as abelhas foram mantidas em recipientes com ventilação adequada e alimento (solução de açúcar e água a 50 %) oferecido à vontade.
- O ensaio foi conduzido à temperatura ambiente de  $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e duração de 48 horas.
- Foram feitas avaliações da letalidade e dos efeitos comportamentais após 4 horas, 24 horas e 48 horas.

## Desenho experimental e estatística

Testes preliminares foram feitos para estabelecer um intervalo de concentrações a ser utilizado no teste definitivo. Diluições do inseticida foram preparadas em cinco concentrações e controle, ambos sem repetições, utilizando-se 5 abelhas por tratamento, em um total de 30 abelhas. Com os dados de mortalidade em cada concentração foi estimada a  $DL_{50}$ . Com base no valor da  $DL_{50}$  preliminar foi definida a faixa de concentrações para o teste definitivo. Os testes definitivos foram feitos em delineamento experimental inteiramente casualizado, em 5 concentrações e controle, em 4 repetições e 5 indivíduos por repetição, em um total de 120 abelhas (Tabela 1). O teste foi conduzido à temperatura de  $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e na ausência de luminosidade, com duração de 48 horas e avaliações da mortalidade nos intervalos de 4 horas, 24 horas e 48 horas. A estimativa da concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ) foi feita pelo método Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton et al. 1997). O programa TOXRAT<sup>®</sup> (2003) foi usado para as análises de Probit e elaboração da curva de dose-resposta.

## Resultados e Discussão

Resultados mostraram que as duas espécies de abelhas apresentaram diferentes níveis de sensibilidade ao inseticida Parathion metil. Foram estimados valores da dose letal mediana ( $DL_{50}$  24h) de 0,05  $\mu\text{g}/\text{abelha}$  e 0,09  $\mu\text{g}/\text{abelha}$  para as espécies *Melipona seminigra* e *Apis mellifera*, respectivamente. Considerando que os limites dos intervalos de confiança a 95 % das  $DL_{50}$  não se sobrepõem, a diferença de

sensibilidade das duas espécies de abelhas ao Parathion metil é estatisticamente significativa. As curvas de dose-resposta (Figuras 1 e 2), resultantes das análises de Probit, indicam como as duas espécies de abelhas responderam às doses crescentes de Parathion metil. Observou-se a diferença nos valores de inclinação das curvas (Tabela 2), o que indica diferença de sensibilidade. Valores mais altos de inclinação de uma curva de dose-resposta indicam que pequenas variações na dose promovem grandes variações na mortalidade. Apesar da diferença de sensibilidade ao Parathion metil entre as duas espécies observadas neste estudo, esse inseticida tem a mesma classificação toxicológica para *M. seminigra* e *A. mellifera*: "altamente tóxico" (ver Tabela 3).

**Tabela 1.** Toxicidade aguda de contato de Parathion metil para duas espécies de abelhas.

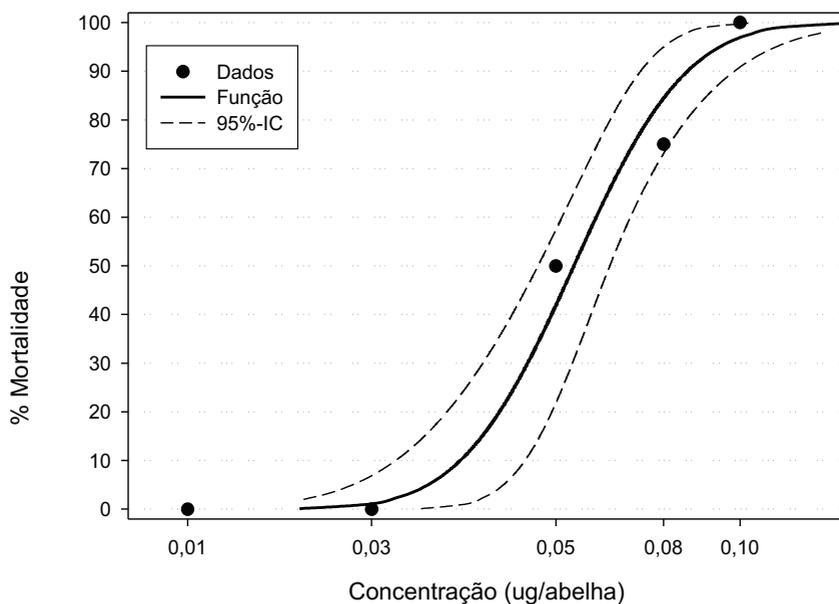
<i>Melipona seminigra</i>		<i>Apis mellifera</i>	
Tratamento ( $\mu\text{g}/\text{abelha}$ )	Mortalidade (%)	Tratamento ( $\mu\text{g}/\text{abelha}$ )	Mortalidade (%)
Controle	0	Controle	0
0,0125	0	0,2	10
0,025	0	0,4	5
0,05	50	0,8	35
0,075	75	0,16	70
0,1	100	0,32	100

**Tabela 2.** Comparação entre a toxicidade (DL50) aguda de contato de Parathion metil para duas espécies de abelhas (IC Intervalo de confiança a 95 %).

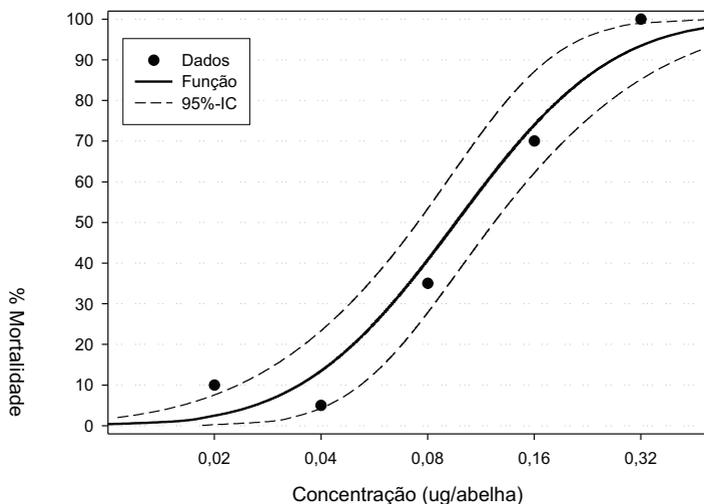
Espécie	DL50 [24h] ( $\mu\text{g}/\text{abelha}$ )	Inclinação da curva dose-resposta	Intervalo de Confiança 95 %	
			Inferior	Superior
<i>Apis mellifera</i>	0,096	2,89	0,075	0,123
<i>Melipona seminigra</i>	0,053	6,89	0,047	0,061

**Tabela 3.** Classificação toxicológica de pesticidas para abelhas. (EPPO, 1992).

DI50 ( $\mu\text{g}/\text{abelha}$ )	Classificação
$\geq 10$	Pouco tóxico
1 a 10	Medianamente tóxico
0,1 a 1	Muito tóxico
$< 0,1$	Altamente tóxico

**Figura 1.** Curva dose-resposta de toxicidade aguda de Parathion metil para *M. Seminigra*.

O protocolo padrão OECD 214 sugere que a estimativa da  $DL_{50}$  seja feita após 48 horas. Entretanto, devido à mortalidade maior que 10 % no controle do teste com *A. mellifera* entre 24 horas e 48 horas, para possibilitar a comparação, foram considerados os valores da  $DL_{50}$  calculados após 24 horas de exposição, para ambas as espécies.



**Figura 2.** Curva dose-resposta de toxicidade aguda de Parathion metil para *A. Mellifera*.

Estudos do efeito desse inseticida para *A. mellifera* mostram a grande tolerância das abelhas africanizadas (0,32  $\mu\text{g}/\text{abelha}$ ) e européias (0,17  $\mu\text{g}/\text{abelha}$ ) (Danka et al., 1986). Comparando com os dados disponíveis na literatura (referência citada acima), a sensibilidade de *M. seminigra* é 4 a 8 vezes maior que em *A. mellifera*, e 2 vezes maior se comparada aos dados gerados neste estudo.

A espécie *A. mellifera* é hoje utilizada como padrão em testes de toxicidade para abelhas. Atualmente, os dados de toxicidade utilizados para a avaliação do risco de pesticidas para abelhas são obtidos com a espécie *A. mellifera*. Portanto, para uma avaliação de risco de inseticidas, os dados de toxicidade para *A. mellifera* não devem ser extrapolados para a espécie nativa *M. Seminigra*.

Considerando o potencial que as espécies de abelhas nativas têm para uso em programas de polinização de cultivos tropicais e a chance dessas espécies apresentarem maior sensibilidade aos inseticidas, são necessárias medidas para monitorar e minimizar o efeito dos agrotóxicos sobre a diversidade de abelhas nativas. A metodologia padrão existente para teste de toxicidade aguda tópica em abelhas apresentou limitações e não pode ser validada durante este estudo devido à alta mortalidade no controle após 24 horas de exposição.

Um novo método de avaliação de toxicidade de substâncias químicas para abelhas, que consiste na aplicação da substância teste diretamente no alimento das larvas (Aupinel et al., 2005, 2007), foi testado na Europa. A avaliação da toxicidade na fase larval é mais realista, já que muitas vezes os pesticidas e outros contaminantes podem afetar também a fase larval no interior do ninho das abelhas. Entretanto, esse método necessita ser avaliado em condições de clima tropical.

## Conclusões

Devido a maior sensibilidade de *M. seminígra* ao inseticida Parathion metil, novos dados de toxicidade devem ser produzidos para a avaliação de risco de pesticidas para abelhas nativas da Amazônia. Entretanto, será necessária a validação da metodologia padrão para teste de toxicidade aguda em abelhas.

## Agradecimentos

Os autores são gratos à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo suporte financeiro ao projeto, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM, pela concessão da bolsa de iniciação científica.

## Referências

AUPINEL, P.; FORTINI, D.; DUFOUR, H.; TASEI, J.N.; MICHAUD, B.; ODOUX, J.F.; PHAM-DELÈGUE, M-H. Improvement of artificial feeding in a standard *in vitro* method for rearing *Apis mellifera* larvae. **Bulletin of Insectology**, 58:107111. 2005.

AUPINEL, P.; FORTINI, D.; MICHAUD, B.; MAROLLEAU, F.; TASEI, J.N.; ODOUX, J.F. Toxicity of dimethoate and fenoxycarb to honey bee brood (*Apis mellifera*), using a new *in vitro* standardized feeding method. **Pest Management Science**, 63: 1090-1094. 2007.

DANKA, R.G., RINDERER, T.E., HELLMICH, II, R.L., & COLLINS, A.M. Comparative toxicities of four topically applied insecticides to Africanized and European Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, 79: 18-21, 1986.

DEL SARTO, M. C. L., R. C. PERUQUETTI, & L. A. O. CAMPOS. Evaluation of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) as pollinator of greenhouse tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, 98(2): 260-266. 2005.

DEL SARTO, M.C.L., R.C. PERUQUETTI & L.A.O. CAMPOS. Polinização em ambientes protegidos: uso da abelha-sem-ferrão mandaçaia em sistemas orgânicos de produção. In: Aguiar, R. L., R. J. Darezzo, D. E. Rozane, G. A. H. Aguilera & D. J. H. Silva (eds.), **Cultivo em ambiente protegido: histórico, tecnologia e perspectivas**. UFV/DFT, Viçosa. 2004.

EPPO. Guideline on Test Methods for Evaluation the Side-Effects of Plant Protection Products on Honeybees (No. 170). **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, 22, p. 203-215. 1992.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v.11, p.714-719, Correction (1978) 12, 417, 1997.

MORAES, S. S., A. R. L. BATISTA, & B. F. VIANA. Avaliação da toxicidade aguda ( $DL_{50}$  e  $CL_{50}$ ) de inseticidas para *Scaptotrigona tubiba* (Smith) (Hymenoptera: Apidae): via de contato. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 29(1): 31-37. 2000.

OECD Organisation for Economic Cooperation and Development: **Guideline for testing of chemicals No. 214 "Honeybees, acute contact toxicity test"**, Paris, 1998.

TOXRAT® **Software for the statistical analysis of biotests**. Copyright: ToxRat Solutions GmbH, Alsdorf, Germany, 2003.