

## APRENDIZADO DE ABELHAS *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) EXPOSTAS A UM INSETICIDA A BASE DE DELTAMETRINA

ANNA CLARA BOEIRA MULLER<sup>1</sup>; KAILANE FLÔRES MARTINS<sup>2</sup>; THALITA  
COLLARES ALVES<sup>3</sup>; EDISON ZEFA<sup>4</sup>; VAGNER LUIZ GRAEFF FILHO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – mullerannaclara@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – kailanefloresmartins@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – thalita.collares.alves@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – edzefa@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – vagner.filho966@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As abelhas desempenham um papel essencial no meio ambiente, sendo fundamentais para a polinização de plantas e culturas agrícolas. Como um dos principais grupos de polinizadores, sua importância econômica é mundialmente reconhecida. A contribuição econômica das abelhas *Apis mellifera* (LINNAEUS, 1758), é estimada em 235 - 577 bilhões de dólares em todo o mundo (IPBES, 2016). Além disso, estima-se que as abelhas sejam responsáveis por mais de 95% da polinização de culturas que dependem de animais polinizadores, contribuindo também para a manutenção da biodiversidade (OLLERTON et al., 2011). Nos últimos anos, tem-se observado um declínio nas populações de abelhas selvagens e domésticas em diversas regiões, ameaçando seus serviços ecossistêmicos. Um dos principais fatores desse declínio é devido a exposição por contaminantes e produtos agrícolas usados para o controle de pragas e plantas daninhas (WILLIAMSON et al., 2013).

Embora pesticidas sejam utilizados para eliminar pragas e plantas indesejadas, seu uso na agricultura pode ter efeitos prejudiciais em organismos não-alvo, como as abelhas (DI NOI et al., 2021). As abelhas precisam ser eficientes na busca por pólen e néctar, o que depende de comportamentos complexos, como navegação precisa, aprendizado associativo e capacidade de generalização. Esses comportamentos são negativamente afetados por pesticidas e outros produtos agrícolas que atuam como neurotóxicos (POTTS et al., 2010). A deltametrina, um inseticida sintético do grupo dos piretroides, também é neurotóxico e interfere nos canais de sódio dependentes de voltagem, resultando em um prolongamento da corrente de sódio durante a excitação causada pela despolarização da membrana, resultando em uma hiperexcitabilidade neuronal (BADIOU et al., 2008).

Nesse contexto, as abelhas têm sido amplamente utilizadas como espécies modelo em ensaios ecotoxicológicos e monitoramento ambiental, devido à sua facilidade de manejo, monitoramento, distribuição global e ciclo de vida relativamente curto e bem documentado (TOSI et al., 2022). Sabendo disso, trabalhos anteriores já estabeleceram uma relação com a ação do deltametrina e os efeitos de resposta olfatórios em indivíduos forrageadores de voo livre (DECOURTYE et al., 2004). Entre os insetos, *A. mellifera* é reconhecida pela diversificada gama de habilidades de aprendizagem, capaz de associar recompensa alimentar a estímulos sensoriais como o odor (MATSUMOTO et al., 2012).

O objetivo deste estudo foi avaliar, com base no protocolo de condicionamento revisado por MATSUMOTO (2012) a capacidade de aprendizado de abelhas *A. mellifera* adultas, associando odor a recompensa alimentar,

expostas a duas concentrações de um inseticida a base de deltametrina abaixo da sua LD50 descrita na literatura (DECOURTYE et al., 2004).

## 2. METODOLOGIA

Abelhas adultas *A. mellifera* foram coletadas no Centro Agropecuário da Palma localizado no município Capão do Leão - RS, e transferidas ao Laboratório de Ecologia de Lepidoptera (LELeP) da UFPel (Universidade Federal de Pelotas). Foi utilizado doses do inseticida Deltametrina na formulação Decis 25 EC® Bayer nas concentrações nominais de 0,0025 e 0,0125µg/abelha conforme BADIOU et al., 2008.

Os indivíduos foram sedados em baixa temperatura. Após a diminuição dos movimentos foram colocados em ponteiros de pipeta de 1000µl com o topo recortado e fixadas com fita adesiva entre tórax e cabeça, permitindo o movimento das antenas e peças bucais (Fig. 1). Para as análises foi utilizado o protocolo de condicionamento clássico da Resposta da Extensão da Probóscide (PER - *proboscis extension response*) revisado por MATSUMOTO (2012). As abelhas foram separadas em três grupos, com cinco indivíduos em cada: um grupo controle, tratado com água e açúcar na proporção de 1:1; um grupo tratado com inseticida na concentração de 0,0025µg/abelha; e um grupo tratado com inseticida na concentração de 0,0125µg/abelha.

Para o treinamento de associação foi utilizado óleo essencial de gerânio, apresentado para as abelhas durante 4 s, seguido de uma gota de solução dos seus respectivos tratamentos. Esse protocolo era repetido durante cinco vezes visando formar uma memória robusta. Após 1h era ofertado o mesmo odor com o objetivo de confirmar o aprendizado.

Para as análises estatísticas foi estimado no ambiente RStudio um modelo linear generalizado misto, utilizando o pacote glmmTMB. As diferenças foram consideradas significativas se  $p \leq 0,001$ . Considerando como variável resposta o cPER e variável fixa as concentrações de Deltametrina, e fator aleatório os indivíduos e blocos. O modelo foi validado pela inspeção visual da distribuição dos resíduos com o pacote DHARMA.



Figura 1 - Abelhas adultas *A. mellifera* conforme protocolo PER.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo controle e o grupo exposto à menor dose (0,0025µg/abelha) apresentaram uma curva de aprendizagem crescente, esses indivíduos foram capazes de associar o odor ao alimento. Em contrapartida, nenhum indivíduo exposto à dose mais alta (0,0125µg/abelha) respondeu aos testes de treinamento (Fig. 2a). No teste de aprendizado realizado 1h após o treinamento, o grupo

controle e o grupo exposto a 0,0025µg/abelha não apresentaram diferenças significativas. No entanto, o grupo exposto à dose mais alta exibiu um percentual de aprendizado significativamente menor (Fig. 2b). Após 24h foi avaliado a sobrevivência das abelhas que passaram pelo teste de aprendizado. Todas as abelhas do grupo controle sobreviveram, no tratamento 0,0025 µg/abelha teve um taxa de 86,67% de sobrevivência. Na dose mais alta apenas 33,33% sobreviveram.

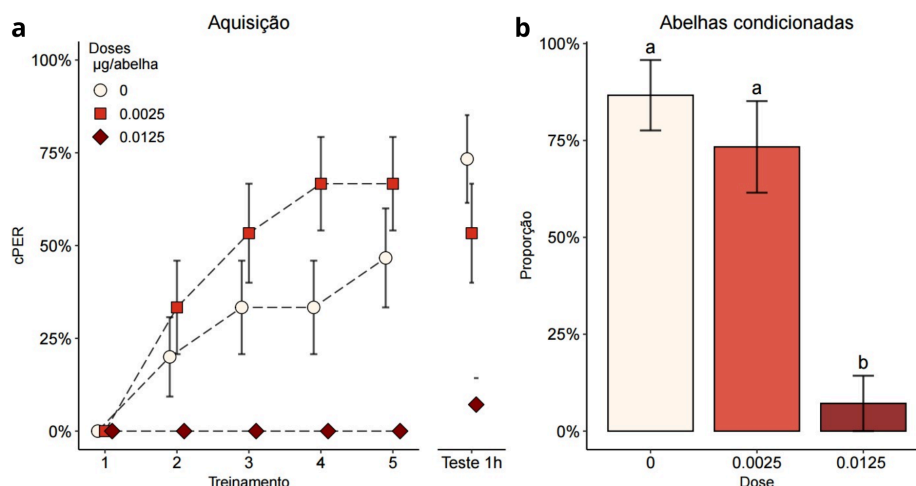


Figura 2 - Condicionamento PER olfativo absoluto de abelhas. (a) Curvas de aquisição de abelhas que receberam diferentes doses de Deltametrina; (b) Proporção de abelhas condicionadas após 1h, letras distintas retratam diferença estatística. \*  $p < 0,001$ .

Nossos resultados corroboram com os dados obtidos por DECOURTYE et al., (2005), que identificaram a deltametrina como um dos contaminantes que afetam o aprendizado das abelhas *A. mellifera*. Embora a curva de aquisição seja maior para a concentração de 0,0025µg/abelha, num panorama geral, as abelhas possuem um percentual de aprendizagem consideravelmente menor, o que pode estar relacionado ao fato de que a exposição a contaminantes pode aumentar a visitação floral, mas compromete a eficiência de forrageamento (UHL; BRÜHL, 2019).

A respeito dos efeitos do deltametrina, VAN DAME et al., (1995) comprovaram que uma grande quantidade de abelhas expostas não conseguiam retornar à colônia, então mesmo que a concentração mais baixa não afete diretamente o aprendizado, tem que se considerar os efeitos a longo prazo.

#### 4. CONCLUSÕES

Este estudo evidenciou que a deltametrina na formulação Decis 25 EC® Bayer, utilizada na agricultura, causa efeitos adversos em organismos não-alvo. Os resultados indicam que doses de 0,0125µg/abelha ou superiores são letais para *Apis mellifera* após 24 h de exposição. Além disso, mesmo concentrações mais baixas comprometem o aprendizado e a sobrevivência das abelhas. Isso pode impactar significativamente suas funções ecológicas, como a eficiência no forrageamento. Considerando o declínio das populações de abelhas, a preservação desses polinizadores torna-se crucial, não apenas por sua importância econômica, mas também pela manutenção da saúde dos ecossistemas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BADIOU, A. et al. Honeybee *Apis mellifera* acetylcholinesterase - A biomarker to detect deltamethrin exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 69, n. 2, p. 246-253, 2008.

DECOURTYE, A. et al., Comparative Sublethal Toxicity of Nine Pesticides on Olfactory Learning Performances of the Honeybee *Apis mellifera*. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 48, p. 242–250, 2005.

DI NOI, A. et al. Review on Sublethal Effects of Environmental Contaminants in Honey Bees (*Apis mellifera*), Knowledge Gaps and Future Perspectives. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2021.

IPBES (2016): Summary for policymakers of the methodological assessment report on scenarios and models of biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. Bonn, Germany.

FERRIER, S. et al. **IPBES (2016): Summary for policymakers of the methodological assessment of scenarios and models of biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services**. Bonn, Germany, 2016.

MATSUMOTO, Y. et al. Revisiting olfactory classical conditioning of the proboscis extension response in honey bees: A step toward standardized procedures. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 211, n. 1, p. 159-167, 2012.

OLLERTON, J. et al. How many flowering plants are pollinated by animals?. **Oikos**, v. 120, n.3, p. 321-326, 2011.

POTTS, S. et al. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 25, n. 6, p. 345-353, 2010.

TOSI, S. et al. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. **Science of The Total Environment**, v. 844, 2022.

UHL, P; BRÜHL, C. A. The impact of pesticides on flower-visiting insects: **A review with regard to European risk assessment**. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 38, n. 11, p. 2355-2370, 2019.

VAN DAME, R., et al. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. Exposed to sublethal dose of deltamethrin. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 14, n. 5, p. 855-860, 1995.

WILLIAMSON, S. et al. Acute exposure to a sublethal dose of imidacloprid and coumaphos enhances olfactory learning and memory in the honeybee *Apis mellifera*. **Invert Neurosci**, v. 13, p.63-70, 2013.