

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO DE DUAS ESPECIES DE
ABELHAS A AGROTOXICOS**

ROBERTO BARBOSA SAMPAIO

**CRUZ DAS ALMAS / BAHIA
2018**

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO DE DUAS ESPECIES DE ABELHAS A AGROTOXICOS

ROBERTO BARBOSA SAMPAIO

Zootecnista

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2011

Relatório de tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientadora: Profa. Dra. Cândida Maria Lima Aguiar
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

**CRUZ DAS ALMAS / BAHIA
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

S192e	<p>Sampaio, Roberto Barbosa. Efeitos da exposição de duas espécies de abelhas a agrotóxicos / Roberto Barbosa Sampaio._ Cruz das Almas, BA, 2018. 110f.; il.</p> <p>Orientadora: Cândida Maria Lima Aguiar. Coorientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Abelha – Efeito de pesticida. 2.Abelha – Controle. 3.Produutos químicos agrícolas – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 638.1</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).
Os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico.

AGRADECIMENTO

Em primeiro lugar agradeço a Deus, porque sem ele nada disso seria possível e por toda força e sabedoria a qual me concedeu ao longo dessa caminhada.

A orientadora Prof. Dra. Cândida Maria Lima Aguiar, pela orientação, amizade, compreensão, confiança em mim depositada e por todos os ensinamentos.

Ao Co-orientador Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho, pela imensa amizade e admiração que muito me inspirou a ir cada vez mais longe, além de sua sabedoria em orientar, tanto na vida acadêmica como na profissional.

A minha amiga e atualmente sócia Lana Carton, que me “contratou” para realizar o primeiro projeto no grupo e a partir daí essa amizade foi se solidificando e já é considerada membro da família.

A minha amiga Cerilene Machado que contribuiu com seu apoio, além dos belos puxões de orelha para não perder o foco nas horas mais difíceis.

As minhas amigas e parceiras de trabalho Delzuite e Brunelle, por dividir incontáveis dias de estudo e pesquisa, além de tudo a parceria que foi construída, estreitando os laços de amizade que serão levados para toda vida.

A minha família que sempre me apoiou em tudo e ainda falam que não é a hora de parar, pois o conhecimento é algo fundamental e inesgotável.

A minha noiva Taynara que esteve sempre disposta a tudo para que eu alcança-se o doutorado tão sonhado, foi quem trouxe imensas alegrias nos dias mais tristes e me ajudou não perder o foco quando as dificuldades foram aparecendo.

A todo grupo Insecta que foi a base da minha formação e me ajudou a moldar boa parte do que sou hoje, pois foram mais de 11 anos de convivência, onde criei inúmeros amigos como: Fabrício, Cátia, Adailton Juliana, Emerson, Paula, Samira, Poly, Claudia, Luma, Eliaber, Maiara, Daiane, Gal e Marcel.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

SUMÁRIO

	Página
REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
ARTIGO 1	
EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE <i>Scaptotrigona xanthotricha</i> MOURE, 1950 (HYMENOPTERA: APIDAE) A AGROTÓXICOS	31
ARTIGO 2	
EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE <i>Nannotrigona testaceicornis</i> COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) AGROTÓXICOS.....	54
ARTIGO 3	
VELOCIDADE MÉDIA DE DESLOCAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL EM OPERÁRIAS DE <i>Scaptotrigona xanthotricha</i> MOURE, 1950 E <i>Nannotrigona testaceicornis</i> COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) EXPOSTAS A AGROTÓXICOS	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	105

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS A AGROTOXICOS

Autor: Roberto Barbosa Sampaio
Orientadora: Cândida Maria Lima Aguiar

Resumo: As abelhas nativas têm sua importância destacada na polinização de plantas nativas, mas, também tem potencial para polinizar cultivos agrícolas. Porém, devido a dependência da agricultura por produtos fitossanitários para o controle de doenças e insetos pragas para garantir a produtividade, as abelhas durante o forrageamento podem ser intoxicadas através de diversas vias de contaminação, que podem levá-las a morte ou comprometer seu comportamento de forrageamento. Com o objetivo de avaliar os efeitos dos produtos fitossanitários ciflumetofem, clorpirifós, difenoconazol, glifosato e azadiractina sobre *Scaptotrigona xanthotricha* e *Nannotrigona testaceicornis*, através da aplicação tópica, a ingestão e o contato superfície contaminada, foram avaliados os efeitos dos produtos fitossanitários na sobrevivência das abelhas, em 19 intervalos de tempo, variando de uma a 96 horas após a exposição. Também foram avaliadas alterações no comportamento, em intervalos de tempo 15 minutos a 24 horas, e na quantidade de proteína total, entre um a seis dias após a exposição das abelhas aos produtos fitossanitários, através de experimentos de letalidade, atividade motora e quantificação total de proteínas. Constatou-se que os produtos fitossanitários avaliados, independente da classificação que estão inseridos comprometeram a sobrevivência ou o comportamento das abelhas.

Palavras-chave: *Scaptotrigona xanthotricha*, *Nannotrigona testaceicornis* ciflumetofem, clorpirifós, difenoconazol, azadiractina, glifosato.

ANALYSIS OF EXPOSURE OF SOCIAL BEES (HYMENOPTERA: MELIPONINI) TO PHYTOSANITARY PRODUCTS

Author: Roberto Barbosa Sampaio

Advisor: Cândida Maria Lima Aguiar

Abstract- Native bees are prominent in pollination of native plants, but also have the potential to pollinate agricultural crops. However, due to the dependence of agriculture on phytosanitary products for disease control and insect pests to ensure productivity, bees during foraging can be intoxicated through various routes of contamination, which can lead to death or compromise their foraging behavior. with the objective of evaluate the effects of phytosanitary products ciflumetofem, chlorpyrifos, difenoconazole, glyphosate and azadirachtin on *Scaptotrigona xanthotricha* and *Nannotrigona testaceicornis*, through topical application, ingestion and contaminated surface contact, the effects of phytosanitary products on bee survival were evaluated in 19 time intervals ranging from one to 96 hours after exposure. Changes in behavior were also evaluated at time intervals of 15 minutes to 24 hours and in the amount of total protein, from one to six days after exposure of the bees to the phytosanitary products, through lethality experiments, motor activity and total quantification of proteins. It was found that the phytosanitary products evaluated, regardless of the class that are inserted, compromised the survival or behavior of the bees.

Key words: *Scaptotrigona xanthotricha*, *Nannotrigona testaceicornis*, ciflumetofem, chlorpyrifos, difenoconazole, azadirachtin, glyphosate.

REFERENCIAL TEÓRICO

Importância das abelhas na produção agrícola

A polinização é um dos serviços ambientais fundamentais para a produção de alimentos, uma vez que 35% das principais culturas mundiais dependem de polinizadores (KLEIN et al., 2007). Além disso, esse serviço mutualístico é fundamental para a manutenção do equilíbrio nas comunidades de plantas e de animais a elas associados, gerando frutos e sementes, tanto para a perpetuação das espécies vegetais, como para alimentar os animais herbívoros e onívoros (JANZEN, 1985; KAISER-BUNBURY et al., 2010).

Dentre os polinizadores, as abelhas são consideradas o grupo mais relevante, responsáveis por manter a biodiversidade de plantas (SHEPHERD et al., 2003; NICHOLLS; ALTIERI, 2013), uma vez que são, obrigatoriamente, dependentes de flores, tanto na fase de larvas quanto de adultos, alimentam-se de néctar e pólen (JANZEN, 1971; MICHENER, 2007), destacando-se como os principais agentes polinizadores de espécies nativas e cultivadas (ROUBIK, 1995; HEARD, 1999; GARIBALDI et al., 2015).

Segundo a FAO (2005), aproximadamente 73% das espécies vegetais cultivadas no mundo são polinizadas por alguma espécie de abelha. Estima-se que 42% das 57 maiores lavouras do mundo em volume de produção são polinizadas por pelo menos por uma espécie de abelha nativa (KLEIN et al., 2007), ou seja, cerca de 33% de todas as culturas utilizados como alimento, dependem da polinização por abelhas (BERNAL et al., 2010). A valoração econômica dos serviços de polinização foi estimada por Gallai et al. (2009) em U\$ 177 bilhões por ano. Somente nos EUA o valor estimado para os serviços de polinização foi da ordem de 14 bilhões de dólares anuais (CALDERONE, 2012). No Brasil Giannini et al. (2015) afirma que mais de 50 % das culturas dependem de polinizadores, sendo que quase um terço de forma essencial, diante disso o valor estimado da polinização seria de U\$ 45 bilhões anualmente

Além do aumento da produtividade, estudos têm mostrado que a diversidade de polinizadores, especialmente abelhas, está associada a melhora da qualidade dos frutos em diferentes cultivos, como café (RICKETTS, 2004), tomate (GREENLEAF; KREMEN, 2006; DOS SANTOS; ROSALINO; BEGO, 2009), pepino

(DOS SANTOS; ROSALINO; BEGO, 2008), pimentão (SARMENTO et al., 2005), maracujá-amarelo (FREITAS; OLIVEIRA FILHO, 2003; YAMAMOTO et al., 2012), pimenta (PUTRA; PERMANA; KINASIH, 2014), mini-melancia (BOMFIM et al., 2013) e melão (SILVA et al., 2015).

Dentre as espécies de abelhas sociais importantes para a polinização de espécies vegetais silvestres e cultivadas, se destacam a espécie exótica *A. mellifera*, conhecida no Brasil como abelhas africanizadas (IMPERATRIZ-FONSECA, 2004; SINGH et al., 2014), assim como os meliponíneos, conhecidos como abelhas sem ferrão contribuem com a polinização e relatada por vários autores (ROUBIK, 1995; MENEZES-PEDRO, 2000; NASCIMENTO et al. 2011; NASCIMENTO et al., 2012). As abelhas sem ferrão são responsáveis por desenvolver um papel chave para a manutenção e conservação dos ecossistemas, representando 30% a 90% da reprodução sexual nas florestas tropicais através de polinização e fecundação cruzada das plantas (BAKER; HURD, 1968; KERR et al., 1994; JAFFÉ et al., 2015). Essas abelhas são polinizadores importantes promovendo visitas efetivas às flores, capazes de gerar frutos e sementes (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016), contribuindo para o tamanho do fruto e no número de sementes (VIANA et al., 2014), aumentando a produtividade e o rendimento das culturas (BAKER; HURD, 1968; GARIBALDI et al., 2013).

O papel dessas abelhas é especialmente valorado devido a polinização da flora com implicações para a conservação ambiental nas regiões tropicais (RADER et al., 2013), tornando a diversidade biológica dependente da coexistência das abelhas nativas para a conservação (ATHAYDE et al., 2016).

Importância da meliponicultura: criação de abelhas sociais sem ferrão (Meliponini)

A criação de abelhas teve início com povos indígenas latino-americanos como parte de sua cultura, as abelhas nativas eram importantes elementos culturais desses povos (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006). Os índios Kayapós do Brasil que viviam na Amazônia utilizavam cerume e mel nos rituais religiosos, também como produtos medicinais e alimento. Eles tinham o conhecimento sobre comportamento, classificação taxonômica e hábitos de nidificação dessas abelhas

(CAMARGO; POSEY, 1990). A criação é conhecida desde o ano de 1.500 DC e se intensificou nas últimas décadas, quando recebeu o nome de Meliponicultura.

Esta atividade é tradicional, especialmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, onde os produtos das colônias são muito apreciados, especialmente o mel (NOGUEIRA NETO, 1997; EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2008; SOUZA et al., 2009), embora possa ser desenvolvida em toda a extensão territorial do Brasil, devido à riqueza de seus ecossistemas e à abundância de recursos florais (VENTURIERI, 2008). Os principais produtos das colônias explorados na Meliponicultura são o mel, o samburá (pólen), a cera e a geoprópolis (NOGUEIRA NETO, 1970; KERR et al., 1996; CARVALHO et al., 2003; SOUZA et al., 2011).

Inovações nas técnicas de manejo de colônias, especialmente relacionadas com o padrão de caixa e o método de divisão para multiplicação dos enxames, proporcionaram um aumento do número de criadores em todo o território nacional, principalmente pelo apelo ambiental, com ações sustentáveis e geração de renda junto à agricultura de economia familiar (CARVALHO et al., 2006; SOUZA et al., 2008; ALVES et al., 2016).

Devido aos avanços supracitados, a Meliponicultura encontra-se em expansão, buscando melhorias na produção e na geração de produtos com qualidade e quantidade para atender as exigências de mercado (CARVALHO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013). O incremento da criação racional dessas abelhas possibilita a exploração econômica de seus produtos, surgindo como uma fonte alternativa de renda aos produtores rurais. Entender aspectos da bioecologia das abelhas é fundamental para orientar as técnicas de manejo empregadas à sua produção (SOUZA et al., 2009).

Organismos estudados

Entre os gêneros que compõem a Tribo Meliponini, *Scaptotrigona* Moure (1942) é composto por mais de 22 espécies, dentre estas nove espécies foram registradas no Brasil (MOURE et al., 2007; MENEZES-PEDRO et al., 2014). O gênero *Scaptotrigona* está distribuído em vários países da América Latina, como Brasil, Bolívia, Peru, México. No Brasil, representantes desse gênero são amplamente distribuídos (CAMARGO; PEDRO, 2013), sendo que várias espécies são de interesse econômico (NOGUEIRA NETO, 1997).

Scaptotrigona xanthotricha Moure, 1950 está distribuída no Brasil, registrada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo (CAMARGO; PEDRO, 2013). Essa espécie foi considerada uma subespécie de *S. postica* MOURE, 1950 e também é conhecida por tubi, abelha-fedente, mandaguari-amarelo, trombeta, tujumirim e mandagoari.

Espécies de *Scaptotrigona* são de porte médio e se destacam pelo número de indivíduos por colônias, podendo atingir 50.000 indivíduos (NOGUEIRA NETO, 1997). Populações deste porte acabam necessitando de uma área de forrageamento diversificada em busca de recursos (ROUBIK, 1995), limitada pelo seu raio de voo. No cenário com modificações do ambiente natural devido aos desmatamentos, as abelhas buscam alimentos em áreas cultivadas, onde ficam mais expostas a diferentes formas de contaminação por produtos fitossanitários (DE LA RÚA et al., 2009).

Outro gênero importante é o *Nannotrigona* Cockerell, 1922, cuja espécie mais conhecida é *N. testaceicornis*. Essa abelha possui hábito de nidificação em árvores, troncos e rochas, e é popularmente conhecido como iraiá. A entrada de suas colônias é formada por um tubo de cera, que é fechado à noite para evitar predadores. A população colonial gira em torno de 2.000 a 3.000 indivíduos (LINDAUER; KERR, 1960; MICHENER, 1974). Esta espécie está distribuída em três países Argentina, Paraguai e Brasil, registrada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo (CAMARGO; PEDRO, 2013).

Vulnerabilidade das populações de abelhas e práticas agrícolas não-amigáveis aos polinizadores e ao meio ambiente

As populações de polinizadores estão em declínio (POTTS et al., 2010), apesar da sua importância global. Na última década as populações de abelhas melíferas vêm sofrendo acentuadas perdas em diferentes regiões do mundo (van ENGELSDORP et al., 2008; van ENGELSDORP; MEIXNER, 2010; LEE et al., 2015). Considerando o papel estratégico na produção de frutas e sementes e no equilíbrio dentro das comunidades naturais, essa preocupação vem sendo debatida há algum tempo (BIESMEIJER et al., 2006), resultando na Iniciativa Internacional de Polinizadores pela Convenção Biológica da Diversidade e em programas como a

Iniciativa Brasileira dos Polinizadores (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2007). O declínio nas populações de abelhas e outros polinizadores em todo mundo pode limitar a produção agrícola devido ao déficit de polinização (VAISSIÈRE et al., 2011).

Mesmo para as espécies de abelhas manejáveis, como *A. mellifera*, a criação em termos do número de colônias cresceu lentamente, quando comparado com a necessidade dos serviços de polinização (AIZEN et al., 2009). Essa espécie é uma das mais importantes para a manutenção da produtividade de culturas de interesse econômico (SOUTHWICK, 1994; ALLSOPP et al., 2008).

Muitas causas são apontadas para o declínio dos polinizadores, como resultado da interação de inúmeros fatores promotores de estresse, dentre as quais podem ser citadas a degradação do habitat, adoção de práticas agrícolas pouco conservacionistas, redução da cobertura vegetal resultante do desmatamento e da fragmentação (FREITAS; PINHEIRO, 2010; POTTS et al., 2010; LIMA-VERDE et al., 2014; GOULSON et al., 2015). Além disso, a expansão da fronteira agrícola, associada ao uso indiscriminado de produtos fitossanitários, pode contribuir para um enfraquecimento das colônias, proporcionando condições de facilitação para que patógenos e pragas oportunistas atuem, ocasionando danos severos nas abelhas (FREITAS et al., 2009; RECH et al., 2014). Portanto, a população de abelhas está em declínio, provavelmente, devido aos efeitos da combinação de fatores como a perda de habitat, patógenos e exposição aos produtos fitossanitários e outros xenobióticos (GALLAI et al., 2009; TOMÉ et al., 2012; van der SLUIJS et al., 2013; LIMA-VERDE et al., 2014, COSTA et al., 2014; GOULSON; HUGHES, 2015; GOULSON et al., 2015; GARIBALDI et al., 2015).

Certas práticas agrícolas são extremamente prejudiciais às espécies de abelhas que nidificam em cavidades no solo, em barrancos, em árvores, entre outros, uma vez que a limpeza da área para instalação dos cultivos removem galhos, troncos e destroem barrancos que são utilizados para nidificação (FREITAS et al., 2009; RECH et al., 2014; MONTERO-CASTAÑO et al., 2016). Além disso, espécies de plantas que surgem as margens dos cultivos, descritas como plantas espontâneas e consideradas indesejáveis, são comumente eliminadas das áreas de cultivos (GOULSON et al., 2008), reduzindo a disponibilidade de recursos tróficos para as espécies de polinizadores em escala local (WINFREE et al., 2009; CARVALHEIRO et al., 2012). O uso inadequado de produtos fitossanitários constitui uma das práticas agrícolas altamente negativas sobre os polinizadores, pois afeta a

diversidade, abundância e a eficiência dos serviços de polinização (LIMA; ROCHA, 2012, PINHEIRO; FREITAS, 2010). Durante a aplicação desses produtos a contaminação não afeta apenas as culturas, mas também as plantas espontâneas e outras plantas do entorno, causadas pela deriva dos produtos provocada pelo vento (PINHEIRO; FREITAS, 2010).

Estudos demonstraram os riscos da aplicação indiscriminada dos produtos fitossanitários e seus danos irreparáveis sobre a fauna de polinizadores, em especial às abelhas (BLACQUIÈRE et al., 2012; HENRY et al., 2012; GILL; RAMOS-RODRIGUEZ; RAINE, 2012), o que poderia estar relacionado ao surgimento do fenômeno denominado *Colony Collapse Disorder* (CCD) em *A. mellifera* (van ENGELSDORP et al., 2009; FREITAS; PINHEIRO, 2010; PINHEIRO; FREITAS, 2010; NOCELLI et al., 2012; van der VALK et al., 2012). A redução das colônias de *A. mellifera* devido ao CCD coloca em risco a polinização e a produção de produtos apícolas como mel, cera, própolis e geleia real (BARTH, 2004; MATOS et al., 2014).

Mullin et al. (2010) encontraram resíduos de 121 produtos fitossanitários e metabólitos presentes no pólen e cera de *A. mellifera*, sendo que muitos desses produtos podem ser bioacumulativos e podem estar relacionados com efeitos letas e subletais nas abelhas e conseqüentemente interferindo no desenvolvimento e na sobrevivência da colônia. No Brasil, o uso de produtos fitossanitários esteve relacionado à perda de mais de cinco mil colônias de abelhas africanizadas (NOCELLI et al., 2012).

Entre os inseticidas sintéticos de uso agrícola mais utilizado na atualidade, alguns grupos são bastante conhecidos por causarem danos às abelhas, como os organoclorados, que alteram o fluxo normal dos íons sódio e potássio nos neurônios (FREITAS; PINHEIRO, 2010). Inseticidas organofosforados, que afetam o sistema nervoso promovendo uma excitação, pois inibem a ação da enzima acetilcolinesterase a qual é responsável pela quebra da acetilcolina, portanto os impulsos nervosos são transmitidos continuamente, afetando o sistema neuromotor, promovendo tremores, bater de asas, regurgitação e paralisia parcial (REIGART; ROBERTS, 1999; RIEDL et al., 2006; SILVA et al., 2015).

Novas moléculas também têm sido utilizadas em produtos sintéticos como acaricidas, sendo a benzoilacetoneitrila, cujo mecanismo de ação é por contato, sendo considerado produto perigoso ao meio ambiente (LIMA et al., 2016). Extratos e óleos também podem ser usados como inseticidas no controle de pragas e

doenças, afetando organismos não alvos. Um exemplo é a utilização do óleo extraído das sementes da árvore de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) cujo princípio ativo (azadiractina) pode ser tóxico às abelhas (BARRETO et al., 2012; SINGH et al., 2015). A azadiractina pertence ao grupo químico tetranortriterpenóide, pouco estudado diante de sua suposta atividade ser menos impactante, pois a sua degradação é mais rápida quando exposta a fatores ambientais como temperatura, umidade e luminosidade (TSUZUKI et al., 2000; MATOS NETO et al., 2004).

Embora o aumento das taxas de mortalidade em abelhas tenha como uma das principais causas a intoxicação por inseticidas (JOHNSON et al., 2010), as aplicações de herbicidas também afetam os polinizadores de forma direta e indireta (JOHANSEN et al., 1990). Além disso, o solo contaminado por herbicidas pode exercer um efeito negativo sobre as espécies de abelhas que nidificam no solo (FREITAS et al., 2009; ALVES-DOS-SANTOS et al., 2014).

O produto fitossanitário com maior representação na agricultura mundial é o grupo de inseticidas conhecido por neonicotinóides, devido a sua grande eficiência no combate aos insetos praga. Esses inseticidas neonicotinóides tem ação no impulso nervoso atuando como um composto neurotóxico. Esses compostos estão sendo substituídos por organofosforados e metilcarbamatos, em função da elevada toxicidade (SILVA et al., 2015) aos humanos e à redução da eficiência no controle de pragas (TOMIZAWA; CASIDA, 2003; FREITAS; PINHEIRO, 2010; NOCELLI et al., 2012).

Os neonicotinóides impactam inúmeros aspectos do comportamento e fisiologia das abelhas (BLACQUIÈRE et al., 2012; KRUPKE et al., 2012; ROSSI et al., 2013; CATAE et al., 2014). São inseticidas sistêmicos, podendo ser absorvidos e transportados por meio do sistema vascular das plantas, mantendo suas propriedades tóxicas nos tecidos vegetais por anos (KRUPKE et al., 2012; LIMA et al., 2016), contaminando secreções extraflorais (MIZELL, 2001) e a gutação secretada pelas plantas (GIROLAMI et al., 2009). Os neonicotinóides são compostos sintéticos a base de nicotina que afetam o sistema nervoso bloqueando o receptor de acetilcolina, comumente usados como inseticidas no controle de pragas em folhas e sementes. No entanto, podem atuar de forma sistêmica nos tecidos nas plantas, podendo estar presente em exsudados florais (néctar e pólen), atingindo insetos não alvo como as abelhas (CHAUZAT et al., 2006; GALLAI et al., 2009; GIROLAMI et al., 2009).

A ação sistêmica de determinados inseticidas, como os neonicotinóides, faz com que resíduos sejam acumulados e detectados no pólen e no néctar provenientes de flores (DIVELY; KAMEL, 2012; STONER; EITZER, 2012; KASIOTIS et al., 2014; YAÑEZ et al., 2013; BARBOSA et al., 2015), no mel e no pólen armazenado nas colônias (BERNAL et al., 2010; KAMEL, 2010; TANNER; CZERWENKA, 2011; KRUPKE et al., 2012, POHOREKA et al., 2012; GIROUD et al., 2013; KASIOTIS et al., 2014; PARADIS et al., 2014), nas cargas de pólen transportadas pelas abelhas (CHAUZAT et al., 2006) e em favos de cria no interior das colônias (WU et al., 2011). Como consequência, as abelhas podem experimentar a exposição crônica, ao longo de extensos períodos, principalmente por meio de doses subletais presentes no pólen, néctar e outras secreções vegetais coletadas pelas forrageadoras (BLACQUIÈRE et al., 2012; RUNDLÖF et al., 2015).

Dessa forma, existem várias possibilidades quanto às rotas de exposição das abelhas aos inseticidas, sendo que a ingestão parece ser o principal veículo de contato entre inseticidas sistêmicos e as abelhas (RORTAIS et al., 2005; BLACQUIÈRE et al., 2012). Abelhas forrageiras são expostas por contato aos produtos na superfície de plantas contaminadas durante a colheita de pólen e néctar ou podem ingerir néctar de plantas originadas de sementes revestidas com inseticidas (CHAUZAT et al., 2006; GIROLAMI et al., 2009).

Para a maioria dos produtos fitossanitários em uso no Brasil há necessidade de se analisar os efeitos em campo, além do real efeito das doses subletais comumente testadas em laboratório, de forma a verificar se estes valores são sub ou superestimados (WHITEHORN et al. 2012; CARRECK; RATNIEKS, 2014).

Considerando a diversidade de espécies de abelhas que existem no Brasil, especialmente aquelas passíveis de serem manejadas, como as abelhas sociais sem ferrão, ainda faltam estudos básicos em laboratório para inferir sobre os efeitos desses produtos nessas abelhas.

Efeito de produtos fitossanitários nas abelhas

Os efeitos dos produtos fitossanitários nas abelhas podem não ser imediatamente notados, induzindo mudanças comportamentais ou desorientação, relacionada, muito vezes, com a aprendizagem e a memória (van ENGELSDORP; MEIXNER, 2010).

Alguns mecanismos comportamentais aumentam a capacidade dos insetos evitarem o contato com substâncias tóxicas, através da capacidade de fuga após a detecção das substâncias irritantes ou repelentes (BECKEL et al., 2004; TOMÉ et al., 2012). Assim, coletar dados comportamentais dos insetos em contato com inseticidas é importante na escolha de produtos seletivos, uma vez que substâncias inseticidas podem acumular nos órgãos e causar alterações morfológicas e estruturais em organismos não alvo (ROSSI et al., 2013; CATAE et al., 2014). Produtos seletivos a espécies não alvo podem ser importantes no conjunto de medidas a serem tomadas no MIP (Manejo Integrado de Pragas) (YAMAMOTO; BASSANEZI, 2003; CONTE; CORRÊA-FERREIRA, 2014).

Estudos morfológicos das abelhas afetadas por exposição a inseticidas são importantes na avaliação do risco eco-toxicológico de determinada substância. Alterações após a exposição aos inseticidas químicos podem ocorrer no cérebro (TOMÉ et al., 2012), no intestino (GONÇALVES et al., 2014) e nos túbulos de Malpighi (CATAE et al., 2014). A avaliação da morfologia dos mesmos pode revelar alterações ultra-estruturais induzidas por agentes tóxicos (ROSSI et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014).

Belzunces et al. (2012) relataram os efeitos de produtos fitossanitários no sistema nervoso das abelhas, impactando as funções cognitivas como aprendizagem e memória, habituação, olfato, gustação, navegação e orientação. Esses autores também observaram alterações no comportamento de forrageamento e nas funções fisiológicas, incluindo termorregulação e atividade muscular.

As consequências da exposição das abelhas a esses produtos são geralmente investigadas em testes toxicológicos e estudos de avaliação de riscos (JOHNSON, 2015; GUEDES et al., 2016). A maneira clássica para avaliar o efeito letal de um inseticida é por meio da determinação da toxicidade aguda medida pela Dose Letal (DL_{50}), ou seja, a dose capaz de induzir 50% de mortalidade em animais testados, ou pela Concentração Letal (CL_{50}), que é a concentração capaz de induzir a mortalidade de 50% da população testada (DEVILLERS, 2002).

Enquanto o efeito letal é facilmente determinado, outros efeitos mais sutis, causados por subdoses e relacionados, por exemplo, com a fisiologia ou comportamento das abelhas, como paralisia, desorientação ou mudanças comportamentais, são menos detectáveis, mas podem afetar toda a população

(PHAM-DELÈGUE et al., 2002; VAN ENGELSDORP; MEIXNER, 2010; HENRY et al., 2012; LIMA; ROCHA, 2012; SCHNEIDER, 2012).

O efeito letal é imediato, enquanto que os efeitos subletais geralmente são apontados como os principais problemas. Apesar de não causarem a morte imediata das abelhas e conseqüentemente das suas colônias, podem afetar seu sistema sensorial e neuromotor, comprometendo a atividade das mesmas, levando-as com o tempo à morte (INGRAM et al., 2015). Portanto, os efeitos subletais, apesar de serem difíceis de identificar, impactam tanto quanto os efeitos letais, mais facilmente detectáveis (FREITAS; PINHEIRO, 2010).

Pham-Delègue et al. (2002) e Henry et al. (2012) detalharam diversos estudos comportamentais em abelhas para avaliar os efeitos de doses subletais de inseticidas, como o monitoramento de atividade de abelhas na entrada da colônia e comportamento de orientação realizado pela análise do voo de retorno de uma fonte artificial de alimento para a colônia. Por exemplo, diversas alterações comportamentais têm sido relatadas em *A. mellifera* expostas a diversas concentrações de Imidacloprid, tais como: mudanças na atividade de forrageio e coleta de alimento (COLIN; LE CONT; VERMANDERE, 2001) e perda de comunicação da localização da fonte alimentar e orientação no voo de retorno ao ninho (DECOURTYE et al., 2001).

De uma maneira geral, os poucos trabalhos realizados com meliponíneos revelam que essas abelhas são muito susceptíveis a ação dos produtos fitossanitários. Valdovinos Núñez et al. (2009) em estudo comparativo da toxicidade de inseticidas por aplicação tópica para *Melipona beecheii*, *Trigona nigra* e *Nannotrigona perilampoides* mostraram que operárias mais jovens foram mais sensíveis que as forrageiras nas três espécies. Lourenço et al. (2012) relataram que *Melipona scutellaris* foi mais afetada do que *A. mellifera* quando submetidas a uma dieta contaminada por fipronil. Soares et al. (2015) relatam uma maior sensibilidade de *Scaptotrigona postica* ao neonicotinóide quando comparada com *A. mellifera*.

Segundo Xavier et al. (2010), para *T. angustula* e *N. testaceicornis*, o uso de inseticidas botânicos mostrou-se ser de baixa toxicidade. Contudo, Jacobson (1989) relata os efeitos subletais da Azadiractina em insetos como ação repelente, inibição da atividade de alimentação e toxicidade promovendo distúrbios de crescimento e esterilidade.

Singh et al. (2015) a azadiractina por via de contato e ingestão sobre *Tetragonula iridipennis* mostrou ter efeito letal, no entanto o seu efeito não é imediato como a maioria dos inseticidas sintéticos.

Ao avaliar o efeito de Imidaclopride sobre *Melipona quadrifasciata anthidioides*, Tomé et al., (2012) sugerem que as abelhas sem ferrão, devem ser alvo de estudos sobre o impacto de produtos fitossanitários, não só por causa da sua importância econômica e ecológica, mas também pela vulnerabilidade a estes produtos

Objetivos

Neste cenário, e considerando que as espécies de abelhas sem ferrão são importantes polinizadores que podem ser expostas aos produtos fitossanitários aplicados nas áreas de cultivo durante o processo de forrageamento, este trabalho teve por objetivos avaliar os efeitos da exposição das abelhas *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis* aos produtos fitossanitários ciflumetofem, difenoconazol, azadiractina, glifosato e clorpirifós. Os objetivos específicos foram:

- a) Avaliar a mortalidade e os efeitos da exposição de operárias de *S. xanthotricha* à dose máxima comercial recomendada de agrotóxicos.
- b) Avaliar a mortalidade e os efeitos da exposição de operárias de *N. testaceicornis* à dose máxima comercial recomendada de agrotóxicos
- c) Avaliar a velocidade média e quantificar a proteína total de *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis* quando exposta a agrotóxicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIZEN, M.A.; GARIBALDI, L.A.; CUNNINGHAM, S.A.; KLEIN, A.M. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. **Annals of Botany**, v.103, n.9, p.1579-1588, 2009.

ALLSOPP, M.H.; de LANGE, W.J.; VELDTMAN, R. Valuing insect pollination services with cost of replacement. **PLoS One**, v.3, n.9, p. 1-8, 2008.

ALVES, R.M.O.; CARVALHO, C.A.L.; WALDSCHMIDT, A.M.; PAIXAO, J.F.; SOUZA, B. de A.; SANTOS, L.O.F.; SODRÉ, G.S.; SOUSA, I.C.; SILVA, E.P.; OLIVEIRA, M.P. **Melipona mandacaia Smith, 1863 - a abelha da caatinga do Velho Chico**. Curitiba-PR: CRV, 2016. 248p.

ALVES-DOS-SANTOS, I.; SILVA, C.I.; PINHEIRO, M.; KLEINERT, A.M.P. Quando um visitante floral é um polinizador?. **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, 2016.

ALVES-DOS-SANTOS, I.; AIZEN, M.; SILVA, C. I. Conservação dos polinizadores. In: RECH, A.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I.C. (Org.). **Biologia da Polinização**. 1ed. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, v.1, 2014, 493-524p.

ATHAYDE, S.; STEPP, J.R.; BALLESTER, W.C. Engaging indigenous and academic knowledge on bees in the Amazon: implications for environmental management and transdisciplinary research. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.12, n.1, p.26, 2016.

BAKER, H.G.; HURD JR, P.D. Intrafloral ecology. **Annual Review of Entomology**, v.13, n.1, p.385-414, 1968.

BARBOSA, B.C.; VIEIRA, K.M.; PREZOTO, F. Interações agressivas em abelhas sem ferrão: *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier) invadindo ninho de *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier). **EntomoBrasilis**, v.8, n.2, p.152-154, 2015.

BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: A review of pollen analysis of honeys, própolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v.61, p.342-350, 2004.

BARRETO, A.Q.; BRITO, S.X.; CARVALHO, C.A.L.; NASCIMENTO, A.S.; LÊDO, C.A.S. Contact Action of Neem Extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Tetragonisca angustula* Latreille (Hymenoptera: Apidae) under Controlled Conditions. **Magistra**, v. 24, p. 52-56, 2012.

BECKEL, H.; LORINI, I.; LÁZZARI, S.M.N. Comportamento de adultos de diferentes raças de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera, Bostrichidae) em superfície tratada com Deltamethrin. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.48, p.115-118, 2004.

BELZUNCES, L.; TCHAMITCHIAN, S.; BRUNET, J.L. Neural effects of insecticides in the honey bee. **Apidologie**. v. 43, n.3, p.348-370, 2012.

BERNAL, J; GARRIDO-BAILON, E; DEL NOZAL, MJ; GONZALEZ-PORTO, AV; MARTIN-HERNANDEZ, R; DIEGO, JC; HIGES, M. Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. **Journal of Economic Entomology**, v.103, n.6, p.1964-1971, 2010.

BIESMEIJER, J.C.; ROBERTS, S.P.M.; REEMER, M.; OHLEMULLER, R.; EDWARDS, M.; PEETERS, T.; SCHAFFERS, A.P.; POTTS, S.G.; KLEUKERS, R.; THOMAS, C.D.; SETTELE, J.; KUNIN, W.E. Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. **Science**, v.313, n.5785, p.351-354, 2006.

BLACQUIÈRE, T.; SMAGGHE, G.; VAN GESTEL, C.A.M.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**. v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012.

BOMFIM, I.G.A.; CRUZ, D.D.O.; FREITAS, B.M.; ARAGAO, F.A.S. **Polinização em melancia com e sem semente**. Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E), 2013.

CALDERONE, N.W. Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: trend analysis of aggregate data for the period 1992-2009. **PLoS One**, v.7, n.5, 2012.

CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In MOURE, J.S.; URBAN, D.; MELO, G.A.R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. <Available at <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>>. Acesso: 03 Jun 2018

CAMARGO, J.M.F.; POSEY, D.A.O conhecimento dos Kayapó sobre as abelhas sociais sem ferrão (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera). **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.6, n.1, p.17-42 (Série Zoologia, Notas Adicionais). 1990.

CARRECK, N.L.; RATNIEKS, F.L.W. The dose makes the poison: have “field realistic” rates of exposure of bees to neonicotinoid insecticides been overestimated in laboratory studies? **Journal of Apicultural Research**, v.53, n.5, p.606-614, 2014.

CARVALHEIRO, L.G.; SEYMOUR, C.L.; NICOLSON, S.W.; VELDTMAN, R. Creating patches of native flowers facilitates crop pollination in large agricultural fields: mango as a case study. **Journal of Applied Ecology**, v.49, n.6, p.1373-1383, 2012.

CARVALHO, C.A.L.; ALVES, R.M.O.; SOUZA, B.A. **Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos**. 1ed. Salvador-BA: SEAGRI-BA, 2003. 42p.

CARVALHO, C.A.L.; ALVES, R.M.O.; SOUZA, B. A.; VERAS, S.O.; ALVES, E.M.; SODRÉ, G.S. Proposta de regulamento técnico de qualidade físico-química do mel floral processado produzido por abelhas do gênero *Melipona*. In: VIT, P.; ROUBIK, D. (Org.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. 1ed. Merida, Venezuela: SABER-UULA, Universidade de Los Andes, 2013, v.16, p.1-9.

CARVALHO, C.A.L.; SODRÉ, G.S.; ALVES, R.M.O.; SOUZA, B. A.; MARCHINI, L.C.; CLARTON, L.; PEREIRA, L.L.; SOARES, A.C.F. **Como criar abelhas sem ferrão: do cortiço à caixa racional**. Cruz das Almas-BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2006. 30p.

CATAE, A.F.; ROAT, T.C.; DE OLIVEIRA, R.A.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Cytotoxic effects of Thiamethoxam in the midgut and Malpighian Tubules of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy Research and Technique**, v.77, p.274-281, 2014.

CHAUZAT, M.P.; FAUCON, J.P.; MARTEL, A.C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N.; AUBERT, M. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. **Journal of Economic Entomology**, v.99, p.253-262, 2006.

COLIN, M.E.; LE CONT, Y.; VERMANDERE, J.P. Managing nuclei in insect-proof tunnel as an observation tool for foraging bees: sublethal effects of deltamethrin and imidacloprid. In: BELZUNCES, L.P.; PELISSIER, C.; LEWIS, G.B. (Eds.). **Hazards of Pesticides to Bees**. Paris: INRA, 2001. p.259-268.

CONTE, O.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na Safra 2013/14 no Paraná**. 2014.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; ROUBIK, D.W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUILAR, I.B.; VENTURIERI, G.C.; EARDLEY, C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v.37, n. 2, p.275, 2006.

COSTA, E.M.; ARAUJO, E.L.; MAIA, A.V.P.; SILVA, F.E.L.; BEZERRA, C.E.S.; SILVA, J.G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie**, v.45, p.34-44, 2014.

DE LA RÚA, P.; JAFFÉ, R.; DALL'OLIO, R.; MUÑOZ, I.; SERRANO, J. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. **Apidologie**, v.40, n.3, p. 263-284, 2009.

DECOURTYE, A.; LE METAYER, M.; POTTIAU, H.; TISSEUR, M.; ODOUX, J. F.; PHAM-DELEGUE, M. Impairment of olfactory learning performances in the honey bee after long term ingestion of imidacloprid. **COLLOQUES-INRA**, p.113-120, 2001.

DIVELY, G.P.; KAMEL, A. Insecticide residues in pollen and nectar of a cucurbit crop and their potential exposure to pollinators. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.60, n.18, p.4449-4456, 2012.

DOS SANTOS, S.A.; ROSELINO, A.C.; HRNCIR, M.; BEGO, L.R. Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Genetics and Molecular Research**, v.8, n.2, p.751-757. 2009.

DOS SANTOS, S.A.B.; ROSELINO, A.C.; BEGO, L.R. Pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona aff. depilis* moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses. **Neotropical entomology**, v.37, n.5, p. 506-512, 2008.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; GÓIS, G.C.; SILVA, C.M. Desenvolvimento produtivo de colméias de abelhas *Melipona scutellaris*. **Biotemas**, v.21, p.59-64, 2008.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Protección a los polinizadores**. 2005. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/esp/revista/0512sp1.htm>> Acesso em: 20 set. 2016.

FREITAS, B.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; MEDINA, L.M.; PEIXOTO, A.M.; GALLETO, L.; NATES-PARRA, G.; QUEZADA-EUÁN, J.J.G. Diversity, threats and conservation of native bees in the neotropics. **Apidologie**, v.40, n.3, p.332-346, 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.

FREITAS, B.M.; OLIVEIRA-FILHO, J.H. Ninhos racionais para mamangava (*Xylocopa frontalis*) na polinização do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, v.33, n.6, p. 135-1139, 2003.

GALLAI, N.; SALLES, J.M.; SATTELE, J.; VAISSIERE, B.E. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, v.68, p.810-821, 2009.

GARIBALDI, L.A.; BARTOMEUS, I.; BOMMARCO, R.; KLEIN, A.M.; CUNNINGHAM, S.A.; AIZEN, M.A.; BOREUX, V.; GARRATT, M.P.D.; CARVALHEIRO, L.G.; KREMEN, C.; MORALES, C.L.; SCHÜEPP, C.; CHACOFF, N.P.; FREITAS, B.M.; GAGIC, V.; HOLZSCHUH, A.; KLATT, B. K.; KREWENKA, K. M.; KRISHNAN, S.; MAYFIELD, M. M.; MOTZKE, I.; OTIENO, M.; PETERSEN, J.; POTTS, S.G.; RICKETTS, T.H.; RUNDLÖF, MAJ; SCILIGO, A.; SINU, P. A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; TAKI, H.; TSCHARNTKE, T.; VERGARA, C.H.; VIANA, B.F.; WOYCIECHOWSKI, M. Editor's Choice: Review: Trait matching of flower visitors and crops predicts fruit set better than trait diversity. **Journal of Applied Ecology**, v.52, p.6, p.1436-1444, 2015.

GARIBALDI, L.A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; WINFREE, R.; AIZEN, M.A.; BOMMARCO, R.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; CARVALHEIRO, L.G.; HARDER, L.D.; AFIK, O.; BARTOMEUS, I.; BENJAMIN, F.; BOREUX, V.; CARIVEAU, D.; CHACOFF, N. P.; DUDENHÖFFER, J.H.; FREITAS, B.M.; GHAZOUL, J.; GREENLEAF, S.; HIPÓLITO, J.; HOLZSCHUH, A.; HOWLETT, B.; ISSACS, R.; JAVOREK, S.K.; KENNEDY, C.M.; KREWENKA, K.M.; KRISHANAN, S.; MANDELIK, Y.; MAYFIELD, M.M.; MOTZKE, I.; MUNYULI, T.; NAULT, B.A.; OTIENO, M.; PETERSEN, J.; PISANTY, G.; POTTS, S.G.; RADER, R.; RICKETTS, T.H.; RUNDLÖF; SEYMPUR, C.L.; SCHÜEPP, C.; SZENTGYÖRGYI, H.; TAKI, H.; TSCHARNTKE, T.; VERGARA, C.H.; VIANA, B.F.; WANGER, T.C.; WESTPHAL,

C.; WILLIAMS, N.; KLEIN, A.M. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. **Science**, v.339, n.6127, p.1608-1611, 2013.

GIANNINI, T.C.; CORDEIRO, G.D.; FREITAS, B.M.; SARAIVA, A.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, v.108, n.3, p.849-857, 2015.

GILL, R.J.; RAMOS-RODRIGUEZ, O.; RAINE, N.E. Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. **Nature**, v.491, p.105-108, 2012.

GIROLAMI, V.; MAZZON, L.; SQUARTINI, A.; MORI, N.; MARZARO, M.; DI BERNARDO, A.; GREATTI, M.; GIORIO, C.; TAPPARO, A. Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.1808-1815, 2009.

GIROUD, B.; VAUCHEZ, A.; VULLIET, E.; WIEST, L.; BULETÉ, A. Trace level determination of pyrethroid and neonicotinoid insecticides in beebread using acetonitrile-based extraction followed by analysis with ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1316, p.53-61, 2013.

GONÇALVES, W.G.; FERNANDES, K.M.; BARCELLOS, M.S.; SILVA, F.P.; MAGALHÃES-JUNIOR, M.J.; ZANUNCIO, J.C.; MARTINS, G.F.; SERÃO, J.E. Ultrastructure and Immunofluorescence of the midgut of *Bombus morio* (Hymenoptera: Apidae: Bombini). **Comptes Rendus Biologies**, v.337, p.365-372, 2014.

GOULSON, D; NICHOLIS, E.; BOTIAS, C.; ROTHERAY, E. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**. v.347, p.6229, p.1255957, 2015.

GOULSON, D.; HUGHES, W.O.H. Mitigating the anthropogenic spread of bee parasites to protect wild pollinators. **Biological Conservation**, v.191, p10-19, 2015.

GOULSON, D.; LYE, G.C.; DARVILL, B. Decline and conservation of bumblebees. **Annual Review of Entomology**, v.53, p.191-208, 2008.

GREENLEAF, S.S.; KREMEN, C. Wild bee species increase tomato production and respond differently to surrounding land use in Northern California. **Biological Conservation**, v. 133, n.1, p. 81-87, 2006.

GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; STARK, J.D.; DESNEUX, N. Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. **Annual Review Entomology**, v.61, p.1-20, 2016.

HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual review of entomology**, v.44, n.1, p.183-206. 1999.

HENRY, M.; BEGUIN, M.; REQUIER, F.; ROLLIN, O.; ODOUX J.F., AUPINEL, P.; APTEL, J.; TCHAMITCHIAN, S.; DECOURTYE, A. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 348-350, 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização.** 2004. Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/vinces/logo/vera.pdf>>. Acesso: 21 abr. 2018.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SARAIVA, A.M.; GONÇALVES, L. A iniciativa brasileira de polinizadores e aos avanços atuais para a compreensão dos serviços ambientais prestados pelos polinizadores. **Biosciences Journal**. v.23, p.100-106, 2007.

INGRAM, E.M.; AUGUSTIN, J.; ELLIS, M.D.; SIEGFRIED, B.D. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. **Chemosphere**, v.135, p. 272-277, 2015.

JACOBSON, M. Botanical pesticides, past, present, and future. In: **ACS Symposium series-American Chemical Society (USA)**. 1989.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A. T.; MAIA, U.M.; BLOCHTEIN, B.; CARVALHO, C.A.L.; CARVALHO-ZILSE, G.A.; FREITAS, M.B.; MENEZES, C.; RIBEIRO, M.F.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PloS one**, v.10, n.3, p.121-157, 2015.

JANZEN, D.H. Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. **Science**, v.171, n.3967, p.203-205, 1971.

JANZEN, D.H. The natural history of mutualisms. **The Biology of Mutualism: Ecology and Evolution**, p.40-99, 1985.

JOHANSEN, C.A.; MAYER, D.F. **Pollinator protection: a bee & pesticide handbook**. Wicwas Press, 1990.

JOHNSON, R.M. Honey bee toxicology. **Annual Review of Entomology**, v.60, p.415-434, 2015.

JOHNSON, R.M.; ELLIS, M.D.; MULLIN, C.A.; FRAZIER, M. Pesticides and honey bee toxicity-USA. **Apidologie**, v.41, n.3, p.312-331, 2010.

KAISER-BUNBURY, C.N.; TRAVESET, A.; HANSEN, D.M. Conservation and restoration of plant–animal mutualisms on oceanic islands. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v.12, n.2, p.131-143. 2010.

KAMEL, A. Refined Methodology for the Determination of Neonicotinoid Pesticides and Their Metabolites in Honey Bees and Bee Products by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.10, p.5926-5931, 2010.

KASIOTIS, K.M.; ANAGNOSTOPOULOS, C.; ANASTASIADOU, P.; MACHERA, K. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. **Science of the Total Environment**, v.485, p.633-642, 2014.

KERR, W.E. **Biologia e manejo da tíuba: a abelha do Maranhão**. 1ªed. São Luís, MA: EDUFMA: 1996, 156p.

KERR, W.E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V.A. Há Salvação para os Meliponínios? **Anais do I Encontro Sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, v.1, p.60-65, 1994.

KLEIN, A.M.; VAISSIÈRE, B.E.; CANE, J.H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.274, n.1608, p. 303-313, 2007.

KRUPKE, C.H.; HUNT, G.J.; EITZER, B.D.; ANDINO, G.; GIVEN, K. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. **PLoS One**, v. 7, n.1, 2012.

LEE, K.V.; STEINHAEUER, N.; RENNICH, K.; WILSON, M.E.; TARPY, D.R.; CARON, D.M.; ROSE, R.; DELAPLANE, K.S.; BAYLIS, K.; LENGERICHE, E.J.; PETTIS, J.; SKINNER, J.A.; WILKES, J.T.; SAGILI, R.; VANENGELSDORP, D. A national survey of managed honey bee 2013–2014 annual colony losses in the USA. **Apidologie**, v.46, p.292-305, 2015.

LIMA, M. C.; ROCHA, S. A. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil. **Proposta metodológica de acompanhamento**. Brasília: IBAMA, 2012.

LIMA, M.A.P.; MARTINS, G.F.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, R.N.C. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 202, n. 9-10, p.733-747, 2016.

LIMA-VERDE, L.W.; LOIOLA, M.I.; FREITAS, B. M. Angiosperm flora used by meliponine guilds (Apidae, Meliponina) occurring at rainforest edges in the state of Ceará, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.86, n.3, p.1395-1410, 2014.

LINDAUER, MARTIN; KERR, WARWICK E. Communication between the workers of stingless bees. **Bee world**, v. 41, n. 2, p. 29-41, 1960.

LOURENÇO, C.T.; CARVALHO, S.M.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R.C.F. Oral toxicity of fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.89, p.921-924, 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit: sistema de Agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 12 ago. 2018.

MATOS, V.R.; ALENCAR, S.M.; SANTOS, F.A.R. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L. (Apidae) in an area of the semiarid region of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.86, p.407-418, 2014.

MENEZES-PEDRO, S.R. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v.61, n.4, p.348-354, 2014.

MENEZES-PEDRO, S.R.; CAMARGO, J.F.M. Biodiversidade do estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX. Apoidea, Apiformes. In: BRANDÃO, C. R. F.; CANCELLO, E. M. **Invertebrados Terrestres**. São Paulo – FAPESP, 2000.

MICHENER, C.D. The Bees of the World. 2nd. Ed. **Johns Hopkins, Baltimore**, 2007.

MICHENER, C. D. **The social behavior of the bees: a comparative study.** Harvard University Press, 1974.

MONTERO-CASTAÑO, A.; ORTIZ-SÁNCHEZ, F.J.; VILÀ, M. Mass flowering crops in a patchy agricultural landscape can reduce bee abundance in adjacent shrublands. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 223, p. 22-30, 2016.

MOURE, J.S.; URBAN, D.; MELO, G.A.R. **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the neotropical region.** Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>>. Acesso: 09 Nov 2017.

MULLIN, C.A.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.L.; ASHCRAFT, S.; SIMONDS, R.; VANENGELSDORP, D.; PETTIS, J.S. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **PLoS One**, v.5, 2010.

NETO, M.; COSTA, F.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C., SILVA, C.H.O.; PICANÇO, M.C. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.11, p.1077-1081, 2004.

NICHOLLS, C.I.; ALTIERI, M.A. Plant biodiversity enhances bees and other insect pollinators in agroecosystems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.33, n.2, p.257-274, 2013.

NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O.; CARVALHO, S.M.; LOURENCO, C.T.; ROAT, T.C.; PEREIRA, A.M.; SILVA ZACARIN, E.C.M. As Abelhas e os Defensivos Agrícolas. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V.L; CANHOS, D.A. L.; ALVES, D.A.; SARAIVA, A.M (Org.). **Polinizadores no Brasil contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais.** São Paulo: EDUSP, 2012.

NOGUEIRA-NETO P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão.** São Paulo: Nogueirapis, 1997, p. 445.

NOGUEIRA-NETO, P. **A Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 2ª ed. São Paulo, SP: Chácaras e Quintais, 1970. 365 p.

OLIVEIRA, D.J.; SILVA, D.S.M.; SOUZA, A.V.; LIMA JUNIOR, C.A.; SODRÉ, G. S.; CARVALHO, C.A.L. de. Avaliação de métodos de conservação do mel de *Melipona quadrifasciata* com base no perfil sensorial e aceitabilidade. **Magistra**, v. 25, p. 1-6, 2013.

OLIVEIRA, R.A.; ROAT, T.C.; CARVALHO, S.M.; MALASPINA, O. Side-Effects of Thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v.29, p.1122-1133, 2014.

PARADIS, D.; BÉRAIL, G.; BONMATIN, J.M.; BELZUNCES, L.P. Sensitive analytical methods for 22 relevant insecticides of 3 chemical families in honey by GC-MS/MS and LC-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.406, n.2, p.621-633, 2014.

PEDRO, S.R. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v.61, n.4, p.348-354, 2014.

PHAM-DELÈGUE, M.H.; DECOURTYE, A.; KAISER, L.; DEVILLERS, J. Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. **Apidologie**, v.33, n.5, p.425-432, 2002.

PINHEIRO, J.N.; FREITAS, B.M. Efeitos dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v.14, p.266-281, 2010.

POHORECKA, K.; SKUBIDA, P.; MISZCZAK, A.; SEMKIW, P.; SIKORSKI, P.; ZAGIBAJŁO, K.; BOBER, A. Residues of neonicotinoid insecticides in bee collected plant materials from oilseed rape crops and their effect on bee colonies. **Journal of Apicultural Science**, v.56, n.2, p.115-134, 2012.

POTTS, S.; BIESMEIJER, J.C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGEIR, O.; KUNIN, W.E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology & Evolution**, v.25, n.6, p.345-353, 2010.

PUTRA, R.E.; PERMANA, A.D.; KINASIH, I. Application of Asiatic Honey Bees (*Apis cerana*) and Stingless Bees (*Trigona laeviceps*) as Pollinator Agents of Hot Pepper (*Capsicum annum* L.) at Local Indonesia Farm System. **Psyche: A Journal of Entomology**, v.17, n.1, p. 86-91, 2014.

RADER, R.; REILLY, J.; BARTOMEUS, I.; WINFREE, R. Native bees buffer the negative impact of climate warming on honey bee pollination of watermelon crops. **Global change biology**, v.19, n.10, p.3103-3110, 2013.

RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.A.M.; MACHADO, I.C.S. **Biologia da Polinização**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014. v.1. 623p.

REIGART, J.R.; ROBERTS, J.R. **Recognition and Management of Pesticide Poisonings**, 5 ed. United States Environmental Protection Agency, Washington DC, 1999, 239p.

RICKETTS, T.H. Tropical Forest Fragments Enhance Pollinator Activity in Nearby Coffee Crops. **Conservation Biology**, v.18, n.5, p.1262–1271, 2004.

RIEDL, H.; JOHANSEN, E.; BREWER, L. J.; BARBOUR, J. **How to reduce bee poisoning from pesticides**. Oregon State University Extension Service, 2006.

RORTAIS, A.; ARNOLD, G.; HALM, M.P.; TOUFFET-BRIENS, F. Modes of honeybees' exposure to systemic insecticides: Estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie**, v.36, p.71-83, 2005.

ROSELINO, A.C.; SANTOS, S.B.; HRNCIR, M.; BEGO, L.R. Differences between the quality of strawberries (*Fragaria x ananassa*) pollinated by the stingless bees

Scaptotrigona aff. depilis and *Nannotrigona testaceicornis*. **Genetics and Molecular Research**, v.8, n2, p.539-545. 2009.

ROSSI, C.D.; ROAT, T.C.; TAVARES, D.A.; CINTRA-SOCOLOWSKI, P.; MALASPINA, O. Effects of sublethal doses of imidacloprid in malpighian tubules of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Microscopy Research and Technique**, v.76, p.552-558, 2013.

ROUBIK, D.W. Pollination of cultivated plants in the tropics. Rome: **FAO Agricultural Services Bulletin**, n.118, p.196, 1995.

SARMENTO DA SILVA, E.M.; FREITAS, B.F.; SILVA, L.A.D.; OLIVEIRA CRUZ, D.D.; BOMFIM, I.G.A. Biologia floral do pimentão (*Capsicum annum*) e a utilização da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) como polinizador em cultivo protegido. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.3, 2005.

SCHNEIDER, C.W.; TAUTZ, J.; GRÜNEWALD, B.; FUCHS, S. RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera*. **PLoS One**, v.7, n.1, 2012.

SHEPHERD, M.; BUCHMANN, S.L.; VAUGHAN, M.; BLACK, S.H. **Pollinator conservation Handbook**. The Xerxes Society: Portland. p.145, 2003.

SILVA, I.P.; OLIVEIRA, F.A.S.; PEDROZA, H. P.; GADELHA, I.C.N.; MELO, M.M.; SOTO-BLANCO, B. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v.46, n.6, p.703-715, 2015.

SILVA, W.P.; PAZ, J.R.L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, n.10, v.3, p.146-152, 2012.

SINGH, J.; YADAV, S.; CHHUNEJA, P.K. Foraging behaviour and role of *Apis mellifera* Linnaeus in pollination of *Cucumis melo* L. **Journal of Experimental Zoology**, v.17, p.213-217, 2014.

SINGH, P.; KHAN, M.; KUNJWAL, N. Impact of botanical insecticides on the stingless bees, *Tetragonula iridipennis* and the honey bees, *Apis mellifera* L. adults bees (Hymenoptera: Apidae). v.10, n.4, p.1461-1463, 2015.

SOARES, H.M.; SOARES, H.M.; JACOB, C.R.O.; CARVALHO, S.M.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Toxicity of Imidacloprid to the Stingless Bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera: Apidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. v.94, n.6, p.675-680, 2015.

SOUTHWICK, E.E. Book Review. **Environmental Entomology**, v.23, p.1042-1043, 1994.

SOUZA, B.A.; CARVALHO, C.A.L.; ALVES, R.M.O. Notas sobre a bionomia de *Melipona asilvai* (Apidae: Meliponini) como subsídio à sua criação racional. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, p. 53-62, 2008.

SOUZA, L.S.; NASCIMENTO, A.S.; SILVA, S. M. P. C.; SANTOS, P. C.; ALMEIDA SANTANA, A.L.; VIEIRA, J.F.; JESUS, J.N.; OLIVEIRA, D.J.; ANDRADE, J.P.; COSTA, S.N.; SAMPAIO, R.B.; CIRQUEIRA, M.G.; CIRQUEIRA, P.G.; ALVES, R.M.O.; SODRÉ, G.S.; SANTOS, W. S.; MACHADO, C.S. CLARTON, L; FONSECA, A.A.O.; CARVALHO, C.A.L. Preservação e manejo sustentável de abelhas sem ferrão no Estado da Bahia: capacitação para a sustentabilidade. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, p. 4114-4117, 2009.

SOUZA, L.S.; ALVES, R.M. de O.; CARVALHO, C.A.L. de; SOUZA, L.S.; LIMA JÚNIOR, C.A. de. Produção de geoprópolis sob diferentes métodos de coleta em colônias de *Meliponsa scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Magistra**, v.10, p.10-13, 2011.

STONER, K.A.; EITZER, B.D. Movement of soil-applied imidacloprid and thiamethoxam into nectar and pollen of squash (*Cucurbita pepo*). **PLoS One**, v.7, n.6, 2012.

TANNER, G.E.; CZERWENKA, C. LC-MS/MS analysis of neonicotinoid insecticides in honey: Methodology and residue findings in Austrian honeys. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.23, p.12271-12277, 2011.

TOMÉ, H.V.V.; MARTINS, G.F.; LIMA, M.A.P.; CAMPOS, L.A.O.; GUEDES, R.N.C. Imidacloprid-Induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **PLoS One**, v.7, 2012.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J.E. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. **Annual Review of Entomology**, v.48, p 339-364, 2003.

TSUZUKI, E.; MORIMITSU, T.; MATSUI, T. Effect of chemical compounds in pyroligneous acid on root growth in rice plant. **Report of the Kyushu Branch of the Crop Science Society of Japan**, n. 66, p. 15-16, 2000.

VAISSIÈRE, B.E.; FREITAS, B.M.; GEMMILL-HERREN, B. **Protocol to detect and assess pollination deficits in crops: a handbook for its use**. FAO, 2011, 70p.

VALDOVINOS-NUNEZ, G.R.; QUEZADA-EUÁN, J.J.G.; ANCONA-XIU, P.; MOO-VALLE, H.; CARMONA, A.; SÁNCHEZ, E. R. Comparative toxicity of pesticides to stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Economic Entomology**, v.102, n.5, p.1737-1742, 2009.

VAN DER SLUIJS, J.P.; SIMON-DELISO, N.; GOULSON, D.; MAXIM, L.; BONMATIN, J.M.; BELZUNCES, L.P. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v.5, p.293-305, 2013.

VAN DER VALK, H.; KOOMEN, I.; NOCELLI, R.C.F.; RIBEIRO, M.F.; FREITAS, B.M.; CARVALHO, S.M.; KASINA, J.M.; MARTINS, D.; MUTISO, M.; ODIAMBO, C.; KINUTHIA, W.; GIKUNGU, M.; MAUNA, G.; KYPIAB, P.; BLACQUIERE, T.; VAN DER STEEN, J.M.F.; ROESSINK, I.; WASSENBERG, J.; GREMMIL-HERREN, B.

Aspects determining the risk of pesticides to wild bees: risk profiles for focal crops on three continents. **Julius-Kühn Archives**, v.437, p.142-158, 2012.

VANENGELSDORP, D.; EVANS, J.D.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B..K.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D.R.; PETTIS, J.S. Colony collapse disorder: a descriptive study. **PLoS One**, v.4, n.8, 2009.

VANENGELSDORP, D.; HAYES, J.; UNDERWOOD, R.M.; PETTIS, J. A survey of honey bee colony losses in the U.S., fall 2007 to spring 2008. **PLoS One**, v.3, 2008.

VANENGELSDORP, D.; MEIXNER, M.D. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.103, p.S80-S95, 2010.

VENTURIERI, G.C. Contribuições para a Criação Racional de Meliponíneos Amazônicos. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**. Documento 330, 2008, 26p.

VIANA, B.F.; COUTINHO, J.G.E.; GARIBALDI, L.A.; CASTAGNINO, G.L.B.; GRAMACHO, K.P.; SILVA, F.O. Stingless bees further improve apple pollination and production. **Journal of Pollination Ecology**, v. 14, n. 25, p. 261-269, 2014.

WHITEHORN, P.R.; O'CONNOR, S.; WACKERS, F.L.; GOULSON, D. Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 351-352, 2012.

WINFREE, R.; KREMEN, C. Are ecosystem services stabilized by differences among species? A test using crop pollination. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v.276, n.1655, p.229-237, 2009.

WU, J.Y.; ANELLI, C.M.; SHEPPARD, W.S. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. **PloS One**, v.6, n.2, 2011.

XAVIER, V. M.; PIKANÇO, M. C.; BACCI, L.; SILVA, G. A.; BENEVENUTE, J. D. S. Impact of botanical insecticides on indigenous stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 56, n.3, p.713-726, 2010.

YAMAMOTO, M.; SILVA, C.I.; AUGUSTO, S.C.; BARBOSA, A.A.A.; OLIVEIRA, P.E. The role of bee diversity in pollination and fruit set of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa*, Passifloraceae) crop in Central Brazil. **Apidologie**, v.43, n.5, p. 515-526, 2012.

YAMAMOTO, P.T.; BASSANEZI, R.B. Seletividade de produtos fitossanitários aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Laranja**, v.24, n.2, p.353-382, 2003.

YÁÑEZ, K.P.; MARTÍN. M.T.; BERNAL, J.L.; NOZAL, M.J.; BERNAL, J. Trace Analysis of Seven Neonicotinoid Insecticides in Bee Pollen by Solid–Liquid Extraction and Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 7, p.490–499, 2014.

ARTIGO 1

EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE
Scaptotrigona xanthotricha **MOURE, 1950**
(HYMENOPTERA: APIDAE)
A AGROTOXICOS

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Sociobiology*, em versão na língua inglesa.

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE *Scaptotrigona xanthotricha* MOURE, 1950
(HYMENOPTERA: APIDAE) A AGROTOXICOS.**

Resumo: Ao forragear as abelhas são expostas as superfícies das plantas, como suas flores que podem estar contaminados por produtos fitossanitários, que podem afetar sua sobrevivência. O objetivo desse trabalho foi analisar o efeito da exposição de *Scaptotrigona xanthotricha* aos produtos fitossanitários. Avaliou-se a proporção de abelhas mortas, assim como a presença de efeitos subletais nas operárias submetidas às doses recomendadas para controlar determinadas pragas. Nos experimentos, utilizamos os produtos fitossanitários azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem e difenoconazol, por vias de contato, ingestão e aplicação tópica. Todos os produtos testados se mostraram tóxicos para as abelhas quanto aos efeitos subletais. Quanto aos efeitos letais, o clorpirifós teve a maior toxicidade promovendo uma mortalidade de 100% das abelhas em até 3 horas após a exposição. A Azadiractina também teve alta toxicidade causando uma mortalidade de 50% das abelhas em até 12 horas após a exposição. O clorpirifós e azadiractina apresentaram efeito letal, contudo os demais produtos apresentaram efeitos subletais severos, possíveis de comprometer o desenvolvimento da colônia.

Palavras-chave: toxicidade, efeito letal, abelhas sem ferrão, Meliponini, inseticidas.

ANALYSIS OF THE EFFECT OF THE EXPOSURE OF *Scaptotrigona xanthotricha* MOURE, 1950 (HYMENOPTERA: APIDAE) TO PHYTOSANITARY PRODUCTS.

Abstract: When foraging bees are exposed the surfaces of plants, such as their flowers that may be contaminated by phytosanitary products, which may affect their survival. The objective of this work was to analyze the effect of exposure of *Scaptotrigona xanthotricha* to phytosanitary products. It was evaluated the proportion of dead bees, as well as the presence of sublethal effects in the workers submitted to the doses recommended to control certain pests. In the experiments, we used the phytosanitary products azadirachtin, glyphosate, chlorpyrifos, cyflumetofen and difenoconazole, by means of contact, ingestion and topical application. All tested products are toxic to bees for sublethal effects. As for lethal effects, chlorpyrifos had the highest toxicity promoting a 100% mortality of bees within 3 hours after exposure. Azadirachtin also had high toxicity causing a 50% mortality of the bees within 12 hours after exposure. Chlorpyrifos and azadirachtin had a lethal effect, but the other products had severe sublethal effects, which could compromise colony development.

Key words: toxicity, lethal effect, stingless bees, Meliponini, insecticides.

INTRODUÇÃO

Cerca de 300.000 espécies vegetais necessitam de polinização (OLLERTON et al., 2011), sendo que as abelhas são os agentes polinizadores de maior importância para inúmeras dessas espécies de plantas nativas e cultivadas (ROUBIK, 1995; SLAA et al., 2006). As abelhas são responsáveis por 42% da polinização das maiores lavouras comerciais no mundo (KLEIN et al., 2007). Giannini et al. (2015) destacaram que o valor da polinização de culturas no Brasil pode atingir 45 milhões de dólares por ano. As abelhas da tribo Meliponini vêm sendo empregadas com sucesso na polinização de culturas como melão (SANTOS et al., 2008), guaraná (KRUNG, 2014), tomate (DEL SARTO et al., 2005) pimentão (CRUZ et al., 2005), morango (ANTUNES et al., 2007) e citros (RIBEIRO, 2017). Por serem polinizadores efetivos (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016), essas abelhas também são importantes na polinização de inúmeras espécies de plantas, dentre elas as nativas (MACIEIRA; PRONI, 2004; BAKER; HURD, 1968), e cultivadas (HEARD, 1999).

Os serviços de polinização e a manutenção das populações de polinizadores estão ameaçados devido à degradação dos habitats, juntamente com o uso de agrotóxicos, ação de agentes patógenos, parasitas e a intensificação da agricultura, esses fatos são tidos como as causas do declínio das populações de abelhas (PIRES et al., 2016; CARVALHO; DEL LAMA, 2015; FREITAS et al. 2009). A contaminação por produtos fitossanitários é uma das principais causas do declínio dos polinizadores, interferindo diretamente na conservação de insetos e plantas, uma vez que sem a polinização não há produção de sementes (CALDERONE, 2012).

As abelhas ao forragear são expostas a superfície de plantas e a recursos florais que podem estar contaminados com produtos fitossanitários (CHAUZAT et al., 2006; GIROLAMI et al., 2009). Nesse processo, elas podem ser intoxicadas por diferentes vias de contaminação, com consequências diretas aos indivíduos adultos e a colônia (GUEDES et al., 2016), ou indiretas, com interferências no comportamento dos indivíduos (BARBOSA et al., 2015a; JOHNSON, 2015; FREITAS et al. (2010). As abelhas sem ferrão devem ser inclusas em testes de seletividade de produtos fitossanitários uma vez que estas se mostraram mais

vulneráveis do que as abelhas do gênero *Apis* (DECOURTYE et al. 2013 ; ARENA; SGOLASTRA 2014, TOMÉ et al. 2015; LIMA et al., 2016).

As espécies de *Scaptotrigona* são consideradas importantes visitantes florais (RAMALHO et al., 1990; GRAJALES-CONESA et al., 2012; PADILLA VARGAS et al., 2014) tendo a polinização agrícola destacada por RAMALHO et al., (1990), apresentam número elevado de operárias, capazes de realizar inúmeros voos na busca de alimento (NOGUEIRA-NETO, 1970; PADILLA VARGAS et al., 2014), são responsáveis pelo acréscimo da produção diante da polinização de espécies como morango (ROSELINO et al., 2009; MAETA et al., 1992), pepino (ROSELINO et al., 2010; DOS SANTOS, ROSELINO; BEGO, 2008), mini melancia (BOMFIM et al., 2013). Durante estas atividades externas ao ninho para buscar recursos florais, ficam expostas a produtos fitossanitários (SOARES et al., 2015).

Moraes et al. (2000) relataram a vulnerabilidade de *Scaptotrigona tubiba*, aos agrotóxicos deltametrina, triclorfom e malatim quando exposta portanto via de superfície contaminada quanto por via de aplicação tópica, assim como Dorneles et al. (2017) relatam a toxicidade de formete e clorpirifós sobre *Scaptotrigona bipunctata* por via de contato e ingestão. Tomé et al. (2015) relataram a vulnerabilidade *S. xanthotricha*, por via de contato e oral, para os inseticidas azadiractina, espinosade, clorantraniliprole, imidaclopride. Contudo-poucos trabalhos que relataram a toxicidade de produtos fitossanitários sobre *S. xanthotricha* Moure, 1950, espécie que tem ampla distribuição no Brasil nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo (MENEZES-PEDRO et al., 2014).

O objetivo desse trabalho foi analisar os efeitos e possíveis distúrbios comportamentais da exposição de *S. xanthotricha* aos produtos fitossanitários recomendados para controle de algumas pragas agrícolas. Especificamente avaliou-se o efeito letal e subletal sobre as operárias quando submetidas a azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem e difenoconazol, por vias de contato, ingestão e aplicação tópica.

MATERIAL E MÉTODOS

Discos de crias de *Scaptotrigona xanthotricha* Moure, 1950 com adultos prestes a emergir foram coletados de colônias instaladas em caixas modelo INPA no meliponário do Grupo de Pesquisa Insecta do CCAAB/UFRB em Cruz das Almas - BA (12°39'20" W e 39°07'23" S, altitude 220 m) e posteriormente estes discos foram utilizados para formação de uma colmeia em laboratório, com abertura para a área externa. Quando as operárias atingiram a idade de 40 dias foram coletadas na saída da colônia para montagem dos experimentos, garantindo assim uma padronização da idade dos indivíduos.

Os bioensaios foram realizados com os produtos azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem, difenoconazol para testar os efeitos sobre operárias de *S. xanthotricha*. Para os bioensaios foram confeccionadas gaiolas plásticas (100 mm de diâmetro x 100 mm de altura) com duas perfurações laterais para encaixe de microtubos, um contendo água e outro uma solução de sacarose a 50% (Figura 1 A). A gaiola foi fechada com placas de Petri nas partes superior e inferior, com duas perfurações laterais de 27 mm recobertas com tela malha 14 fio 0.30mm em aço favorecendo a ventilação (Figura 1 B). Cada gaiola foi considerada uma repetição e foram utilizadas 10 abelhas.

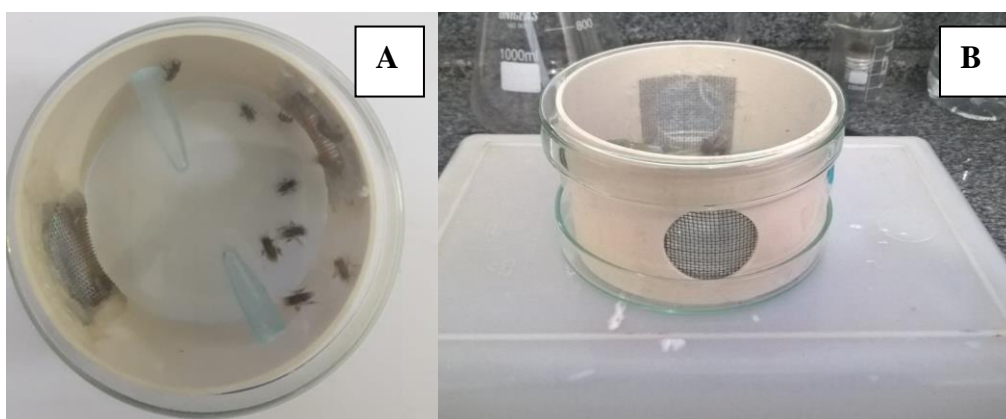


Figura 1. Gaiolas contendo operárias de *Scaptotrigona xanthotricha* com 40 dia de idade, com base e tampa fechadas com placas de Petri e microtubos com água e alimento.

Utilizou-se os seguintes métodos:

- a) Por ingestão - a diluição recomendada de cada produto foi adicionada solução de sacarose a 50%, homogeneizado com bastão de vidro em Becker, e disponibilizado em microtubos de 2ml para as abelhas no interior das gaiolas por 96 horas;
- b) Por contato (Superfície contaminada) - a aplicação do produto foi realizada diretamente sobre placas de Petri, por meio de uma torre de pulverização, na dosagem recomendada. Após duas horas e meia de secagem em temperatura ambiente, as placas de Petri foram utilizadas na base das gaiolas.
- c) Aplicação tópica - os produtos nas dosagens recomendadas foram aplicados, por meio da torre de pulverização, diretamente sobre as abelhas, previamente anestesiadas no congelador a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 minutos.

Foi estabelecido um tratamento controle sem os produtos fitossanitários utilizando apenas mel (procedimento “a”) e apenas água na pulverização (procedimento “b” e “c”). Todos os tratamentos foram mantidos em câmara tipo B.O.D. com temperatura ($28\pm 5^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa ($70\pm 5\%$) controladas. A mortalidade das operárias de *S. xanthotricha* foram registradas nos intervalos de uma, duas, três, quatro, cinco, seis, nove, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72 e 96 horas após a exposição aos produtos testados (CARVALHO et al., 2009).

Os efeitos subletais foram avaliados através da observação das operárias, com registro das alterações de comportamento, como incapacidade de voo, letargia, tremores, agitação, paralisia, repelência da superfície e falta de atratividade pelo alimento (CARVALHO et al., 2009; INGRAM et al., 2015).

Análise estatística

Para avaliação da taxa de sobrevivência das abelhas foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, no qual foram usados cinco produtos fitossanitários (Tabela 1), um controle e três tipos de exposição, totalizando 18 tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de sobrevivência, usando pacote Survival e submetidos à análise estatística no software R[®] (2015). Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier foram geradas para determinar a proporção de abelhas sobreviventes em cada intervalo de tempo após a aplicação de produtos fitossanitários, por via ingestão, por contato via superfície contaminada e por contato via tópica. O teste de Log Rank foi usado para testar a hipótese nula de que as curvas de Kaplan-Meier foram idênticas.

Tabela 1. Princípio ativo, classificação toxicológica, dosagens máximas recomendadas pelo fabricante (DMR), organismo alvo e grupo químico de produtos fitossanitários testados.

Princípio Ativo	Classificação	DMR ¹	Organismo Alvo ¹	Grupo Químico
Azadiractina	Inseticida	250 mL/100L	<i>Diaphorina citri</i>	Tetranortriterpenóide
Glifosato	Herbicida	1,0 L/100L	<i>Cyperus sesquiflorus</i>	Glicina Substituída
Clorpirifós	Inseticida	100 mL/100L	<i>Orthezia praelonga</i>	Organofosforado
Ciflumetofem	Acaricida	40 mL/100L	<i>Brevipalpus phoenicis</i>	Benzoilacetoneitrila
Difenoconazol	Fungicida	20 mL/100 L	<i>Colletotrichum Gloeosporioides</i>	Triazol

¹ em conformidade com o MAPA (2018).

RESULTADOS

Efeito letal

Dentre os produtos testados o clorpirifós foi extremamente tóxico para *S. xanthotricha*, causando a mortalidade de 100% das abelhas antes das 3 horas de exposição, independente do tipo de exposição.

As abelhas que ingeriram a dieta contaminada com ciflumetofem, azadiractina, difenoconazol e glifosato, apresentaram sobrevivência de 100%, 92%, 90% e 76%, respectivamente após 96 horas da exposição. As abelhas expostas a dieta contaminada com ciflumetofem não apresentaram mortalidade até as 96 horas de exposição, resposta esta similar à testemunha. O glifosato causou a mortalidade de 24% das abelhas num intervalo de 72 horas após a exposição aos agrotóxicos. A azadiractina e o difenoconazol causaram uma mortalidade inferior a 10% das abelhas, até as 42 horas (Figura 2).

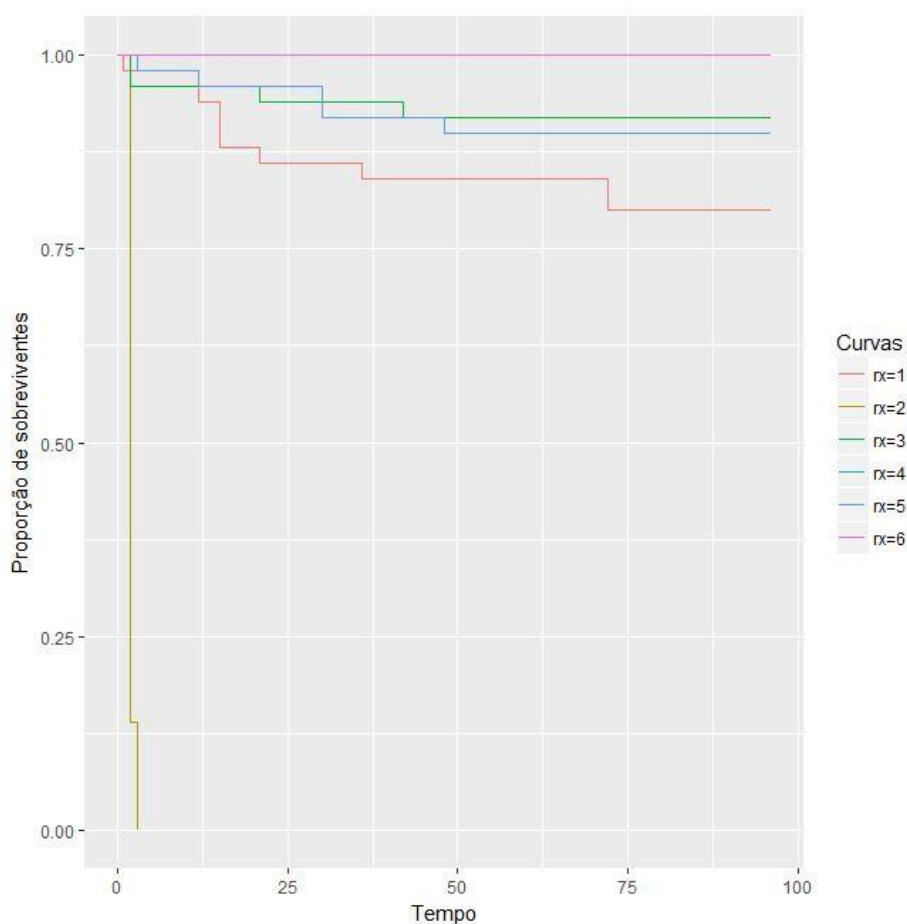


Figura 2. Curvas de sobrevivências traçadas a partir do tempo de exposição (horas) via ingestão até a morte sobre operárias de *Scaptotrigona xanthotricha*: rx =1) Glifosato; rx= 2) Clorpirifós; rx=3) Azadiractina; rx=4) Ciflumetofem; rx=5) Difenoconazol; rx=6) Controle. As curvas indicam a mediana e o percentil de 95%, respectivamente.

As abelhas nas quais os agrotóxicos foram aplicados diretamente através da aplicação tópica com ciflumetofem, glifosato, difenoconazol e azadiractina apresentaram sobrevivência de 98%, 96%, 82%, 50%, respectivamente. A azadiractina causou uma mortalidade de 50% das abelhas até 12 horas após a exposição. As abelhas expostas ao ciflumetofem e o difenoconazol apresentaram mortalidades de 2% e 18% até as 60 horas, respectivamente. O glifosato causou a mortalidade de 4% das abelhas num intervalo de 21 e 24 horas após a exposição aos agrotóxicos (Figura 3).

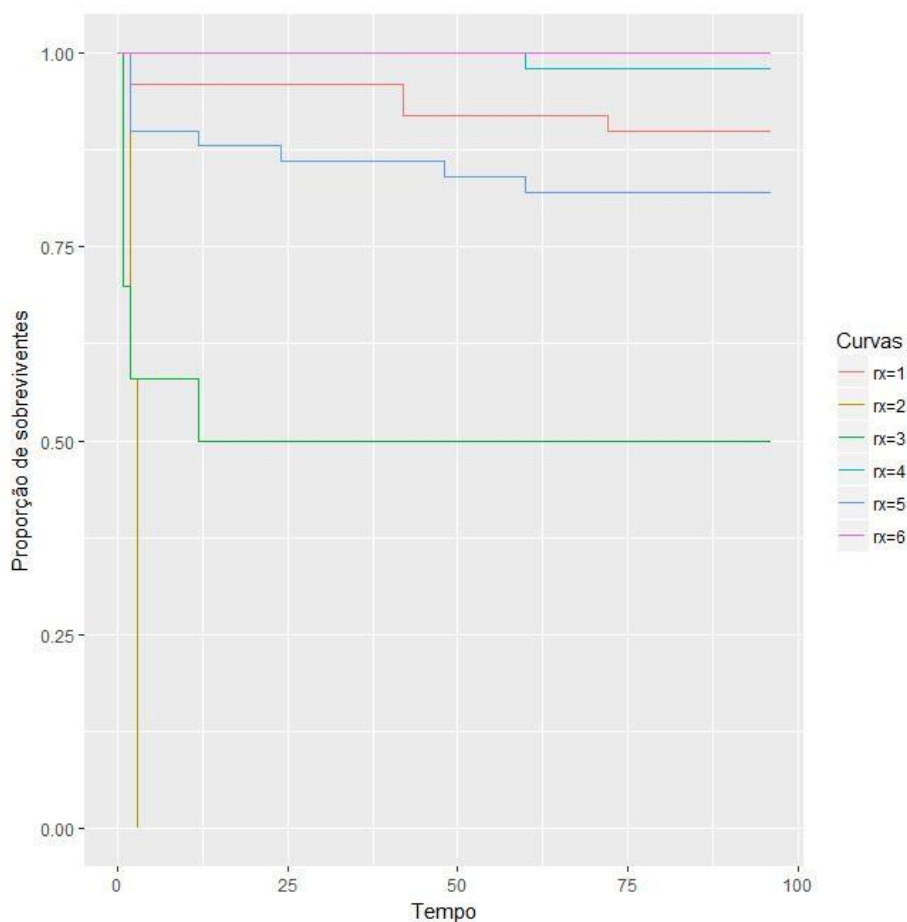


Figura 3. Curvas de sobrevivências traçadas a partir do tempo de exposição (horas) via aplicação tópica tendo contato direto sobre operárias de *Scaptotrigona xanthotricha*: rx =1) Glifosato; rx= 2) Clorpirifós; rx=3) Azadiractina; rx=4) Ciflumetofem; rx=5) Difenoconazol; rx=6) Controle. As curvas indicam a mediana e o percentil de 95%, respectivamente.

Quando expostas ao contato com superfície contaminada com difenoconazol, glifosato, ciflumetofem e azadiractina as abelhas apresentaram sobrevivência de 98%, 90%, 82% e 72% respectivamente. O difenoconazol provocou uma mortalidade de apenas 2% das abelhas até as 96 horas. O glifosato causou a mortalidade de 10% das abelhas num intervalo de duas a 72 horas após a exposição aos agrotóxicos. As abelhas expostas a superfície contaminada com ciflumetofem apresentaram mortalidade de 18% até às 72 horas de exposição. A azadiractina causou uma mortalidade de 28% das abelhas até as 60 após a exposição (Figura 4).

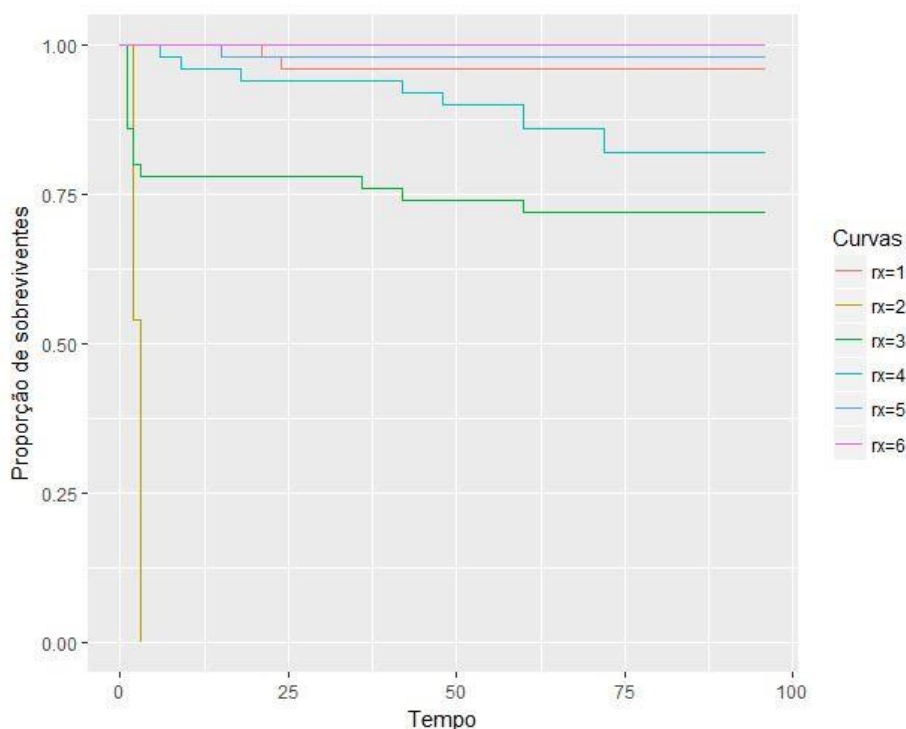


Figura 4. Curvas de sobrevivências traçadas a partir do tempo de exposição (horas) aplicação tópica via superfície contaminada sobre operárias de *Scaptotrigona xanthotricha*: rx =1) Glifosato; rx= 2) Clorpirifós; rx=3) Azadiractina; rx=4) Ciflometofem; rx=5) Difenoconazol; rx=6) Controle. As curvas indicam a mediana e o percentil de 95%, respectivamente.

Efeito subletal

Alterações comportamentais foram observadas em todos os tratamentos exeto no controle, foi realizado um controle para cada tratamento. As abelhas expostas ao glifosato apresentaram alterações comportamentais ao longo das avaliações. As operárias de *S. xanthotricha* apresentavam comportamentos divergentes do tratamento controle, como extrema agitação, constantes batimentos de asas e alterações na coordenação motora, que impediam que as abelhas se fixassem na lateral das gaiolas, a partir da primeira hora de avaliação, sendo esses efeitos mais pronunciados quando as abelhas foram expostas a dieta contaminada. Para o clorpirifós foi detectado que, independente do tipo de exposição, apresentaram comportamentos semelhantes, deixando as abelhas extremamente agitadas, com batimentos constantes de asas, tremores e paralisia. As abelhas

expostas à azadiractina apresentaram nas primeiras horas de avaliação, agitação, autolimpeza e batimentos de asas constantes.

DISCUSSÃO

O inseticida clorpirifós foi extremamente tóxico, reduzindo 100% a sobrevivência das operárias de *S. xanthotricha* em todos os meios de exposição avaliados. Este agrotóxico é um inseticida do grupo químico dos organofosforados, que atua na inibição da colinesterase, enzima muito importante para o funcionamento do sistema nervoso dos insetos. Com a inibição dessa enzima, o sistema nervoso entra em colapso causando tremores constantes, e posteriormente a morte dos insetos (HEINZOW; ANDERSEN, 2006).

Quanto aos efeitos dos organofosforados em relação ao meio de intoxicação, Souza et al. (2013) relataram que o clorpirifós é um dos organofosforados que apresentaram maior risco de contaminação para *A. mellifera*, especialmente quando entram em contato em até 10 horas após a pulverização das lavouras. Este agrotóxico também foi extremamente tóxico para as espécies de abelhas *Scaptotrigona bipunctata* e *Tetragonisca fiebrigi* tanto por via de contato quanto ingestão (DORNELES et al., 2017).

Nas primeiras horas de avaliação, observou-se que as abelhas expostas ao clorpirifós ficaram extremamente agitadas, apresentaram tremores e efeitos na coordenação motora em todos os meios de exposição. Esses resultados foram similares quando relatados por Falco et al. (2010), que avaliando diferentes doses de thiamethoxam, neonecotinoide, em *mellifera* observaram diversos distúrbios comportamentais, pois afeta o sistema nervoso. Estes autores sugerem que as abelhas apresentam alterações como desorientação, glossa estendida, pernas prolongadas, interferindo até na capacidade de regurgitar o alimento. Sabendo que a maioria dos trabalhos relata como os neonecotinoides apresentaram maior toxicidade para as abelhas, no presente trabalho pode-se observar que um organofosforado promoveu distúrbios comportamentais semelhantes.

Estudos realizados por Carvalho et al. (2009) e Baptista et al. (2009) enfatizaram que os tipos de exposição podem causar mais ou menos toxicidade dos produtos fitossanitários sobre as abelhas. Em ambos os trabalhos foi observado que, em contato com a superfície contaminada por organofosforado, as operárias de *A.*

mellifera apresentaram distúrbios comportamentais. Conforme Moraes et al. (2000) triclorfom, deltametrina e malatiom foram considerados altamente tóxicos a *S. tubiba* por meio de aplicações tópicas, sendo o malatiom pertencente ao grupo químico dos organofosforados. Estes autores ainda afirmaram que a via de contato com a superfície contaminada é a via de maior exposição dos indivíduos, pois ao forragear estes estão mais vulneráveis entrando em contato com a superfície de uma folha contendo o produto.

O efeito foi variado conforme o tipo de exposição ao inseticida azadiractina sobre as abelhas *S. xanthotricha*. A taxa de sobrevivência das abelhas submetidas à exposição por aplicação tópica foi menor do que a sobrevivência das abelhas expostas ao contato com a superfície contaminada e à dieta contaminada. Resultados similares foram obtidos por Cloyd (2004), que verificou que a azadiractina via aplicação tópica foi mais letal que por ingestão em *A. mellifera*. Similarmente, Correia-Oliveira et al. (2012) verificaram que o extrato de folhas e sementes *indica* podem afetar *Trigona spinipes* Fabricius, quanto usado por via de contato. Por outro lado, Amaral et al. (2015) relataram que a taxa de sobrevivência das abelhas *A. mellifera* foi baixa quando submetidas à dieta contaminada por azadiractina, porém mudanças ocorrem de acordo com o acréscimo das concentrações. Estes autores destacaram que a vulnerabilidade está relacionada à idade, quanto mais novas forem as operárias, mais vulneráveis.

Além dos efeitos letais, a azadiractina causou também efeitos no comportamento das abelhas a partir das primeiras horas de avaliação, como agitação, autolimpeza e batimentos constantes de asas. Oliveira et al. (2012) também observaram que abelhas *Trigona spinipes* ficaram desorientadas quando submetidas ao contato com extrato de folhas e sementes de *Azadirachta indica*. Barbosa et al. (2015b) verificaram que a azadiractina provoca outros efeitos como alterações morfológicas na progênie, por exemplo, produção de indivíduos menores em *Bombus terrestris*. Van Der Nat et al. (1991) relatam que a azadiractina é um inseticida com ação fagoderrente e hormonal, afetando o comportamento dos insetos, inibindo a alimentação e a produção de hormônios (VAN DER NAT et al., 1991). Essa substância ainda causa efeitos de repelência, toxicológico, inibitório de crescimento e interferindo na alimentação dos polinizadores (JACOBSON, 1989).

Diante do potencial toxicológico da azadiractina, alterações comportamentais foram observadas ao longo das avaliações. Bernardes et al. (2018) observaram

distúrbios morfológicos sobre as abelhas *Partamona helleri* por via de contato ingestão apresentaram modificações no sistema reprodutor, e o mesmo sugere que protocolos de uso dos agrotóxicos sejam realizados a minimizar o efeitos.

Durante as avaliações de sobrevivência das abelhas expostas ao herbicida glifosato, observou-se que este agrotóxico causou baixa mortalidade nas abelhas *S. xanthotricha* em todos os meios de exposição avaliados. Apesar da baixa mortalidade a dieta contaminada foi a que apresentou maior número de abelhas mortas quando comparado aos demais meios de exposição. Balbuena et al. (2015) também relataram um baixo índice de mortalidade de adultos de *A. mellifera* quando submetidas ao glifosato. Contudo, quando expostas via ingestão, as abelhas tiveram sua capacidade de voo comprometida. Herbert et al. (2014) afirma que a sensibilidade sensorial a sacarose e a capacidade cognitivas são comprometidas quando operárias de *A. mellifera* são expostas ao glifosato por via oral. Os mesmos autores ainda afirmam que uma redução da capacidade de aprendizagem

O mecanismo de ação do glifosato é bem estabelecido, sua estrutura molecular, onde esta se assemelha ao fosfoenolpiruvato (PEP), promovendo a inibição da enzima 5-enolpiruvil-shiquimato fosfato sintase (EPSPS), atuando por competição pelo sítio ativo da enzima. Com a inibição da EPSPS, não ocorre a síntese de aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano, indispensáveis à vida das plantas, bactérias e leveduras. EPSPs está presente em todos esses organismos, mas não ocorre em animais, que obtêm estes aminoácidos essenciais por ingestão de vegetais por meio da sua dieta, por isso, a baixa toxicidade para os animais (FRANZ et al., 1997; AMARANTE JUNIOR; SANTOS, 2002). Neste estudo, verificou-se que o glifosato causou baixa mortalidade, porém, até 96 horas de avaliação observaram-se alterações no comportamento das abelhas como extrema agitação, constantes batimentos de asas e alterações na coordenação motora.

O acaricida do grupo químico benzoilacetotrila (ciflumetofem) é uma substância relativamente nova. Há poucos estudos que evidenciem os reais efeitos sobre os agentes polinizadores, com uma classificação ambiental baixa (MAPA, 2018). Hayashi et al. (2013) sugerem que não há toxicidade para *A. mellifera* por via de contato e de ingestão. Neste estudo, verificou-se que este acaricida causou 18% de mortalidade quando as abelhas *S. xanthotricha* foram expostas à superfície contaminada. A toxicidade do ciflumetofem é considerada baixa para abelhas, uma

vez que é um produto para o controle de ácaros, porém as avaliações de risco para abelhas são baseadas em dados de efeitos agudos e crônicos (EFSA, 2013), onde os efeitos subletais não tem sua devida importância na maioria dos estudos, o que dificulta uma avaliação de risco precisa.

O fungicida difenoconazol causou baixa toxicidade nas abelhas *S. xanthotricha*, apresentando baixos efeitos letais nessas abelhas em todos os meios de contaminação avaliados nessa pesquisa. A maior mortalidade (18%) foi registrada quando as abelhas foram submetidas à aplicação tópica. Resultados similares foram registrados para *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith contaminada com difenoconazol por via tópica (KINASIH et al., 2017). Por outro lado, há relato de que outros fungicidas, como propiconazol, do grupo dos triazóis causem toxicidade oral aguda para as abelhas *Osmia lignaria* Say e *A. mellifera* (LADURNER et al., 2005).

O difenoconazol pertence ao grupo químico dos triazóis, que é o grupo composto pelos fungicidas de ação sistêmica, inibidores da síntese de esteróis na membrana celular (ANDRADE JUNIOR; GALBIERI, 2014; BALARDIN, 2015). Porém, seu sítio de ação nos insetos não é conhecido (MOURA et al., 2009). O difenoconazol também causou efeitos no comportamento das abelhas nas primeiras horas de exposição, como agitação, autolimpeza, batimentos constante de asas e comprometimento de coordenação motora.

Diante disso pode-se comprovar a vulnerabilidade destas abelhas aos agrotóxicos, corroborando assim com o trabalho de Moraes et al. (2000) Ao avaliar abelhas do mesmo gênero, relataram a toxicidade de deltametrina, triclorfom e malation sobre *Scaptotrigona tubiba* por via tópica e contato a superfície contaminada se mostrando tóxicos, exceto *Bacillus thuringiensis* que foi relativamente não tóxico. Estes autores ainda sugerem que testes de ingestão devem ser realizados com o intuito de avaliar os diferentes modos de ação.

CONCLUSÃO

O clorpirifós se mostrou mais tóxico para as operárias de *S. xanthotricha* independente do tipo de exposição, seguido da azadiractina que apresentou maior toxicidade por via contato tópico.

Os demais produtos apresentaram baixa letalidade independente do tipo de exposição, contudo os efeitos subletais não podem ser negligenciados, pois todos os

produtos testados apresentaram efeitos subletais, especialmente relacionados com a desorientação, batimentos de asas e agitação, efeitos que podem comprometer as atividades das abelhas principalmente ao forrageamento o que pode implicar no desenvolvimento das colônias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-DOS-SANTOS, I.; SILVA, C.I.; PINHEIRO, M.; KLEINERT, A.M.P. Quando um visitante floral é um polinizador?. **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, 2016.

AMARAL, R.L.; VENZON, M.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, M.A.P. Does ingestion of neem-contaminated diet cause mortality of honey bee larvae and foragers? **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 405-410, 2015.

AMARANTE JUNIOR, O.P.; DOS SANTOS, T.C.R.; BRITO, N.M.; RIBEIRO, M.L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ANTUNES, O.T.; CAVALETE, E.O.; ROCHA, H.C.; NIENOW, A.A.; CECCHETTI, D.R.E.; MARAN, R.E. Yield of strawberry cultivars polinized by jatai bees under protected environment. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 94-99, 2007.

ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 324-334, 2014.

BAKER, H. G.; HURD JR, P. D. Intrafloral ecology. **Annual Review of Entomology**, v. 13, n. 1, p. 385-414, 1968.

BALBUENA, M.S.; TISON, L.; HAHN, M. L.; GREGGERS, U.; MENZEL, R.; FARINA, W. M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, n. 17, p. 2799-2805, 2015.

BARBOSA, W.F.; SMAGGHE, G.; GUEDES, R.N.C. Pesticides and reduced-risk insecticides, native bees and pantropical stingless bees: pitfalls and perspectives. **Pest management science**, v. 71, n. 8, p. 1049-1053, 2015a.

BARBOSA, W.F.; DE MEYER, L.; GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). **Ecotoxicology**, v. 24, n. 1, p. 130-142, 2015b.

BERNARDES, R, C; BARBOSA, W, F; MARTINS, G, F; LIMA, M, A, P, The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1900) queens. **Chemosphere**, v. 201, p. 550-556, 2018.

BOMFIM, I.G.A.; CRUZ, D.D.O.; FREITAS; B. M.; DE ARAGAO; F.A.S. Polinização em melancia com e sem semente. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)**, 2013.

CALDERONE, N.W. Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: trend analysis of aggregate data for the period 1992-2009. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. e37235, 2012.

CARVALHO, A.F.; DEL LAMA, M.A. Predicting priority areas for conservation from historical climate modelling: stingless bees from Atlantic Forest hotspot as a case study. **Journal of Insect Conservation**, v.19, p. 581-587, 2015.

CARVALHO, C.A.L. de ; ALVES, R.M. de O.; SOUZA, B. de A. **Criação de abelhas sem ferrão: aspectos práticos**. 1. ed. Salvador-BA: SEAGRI-BA, 42p., 2003.

CARVALHO, S.M.; CARVALHO, G.A; CARVALHO, C.F.; BUENO FILHO, J.S.S.; BAPTISTA, A.P.M. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 597-606, 2009.

CHAUZAT, M.P.; FAUCON, J.P.; MARTEL, A.C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N.; AUBERT, M. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 253-262, 2006.

CLOYD, R. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better then conventional insecticide? **Illinois Pesticide Review**, v.17, p. 1-3, 2004.

CRUZ, D.O.; FREITAS, B.M.; SILVA, L.A. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, n. 12, p. 1197-1201, 2005.

DECOURTYE, A.; HENRY, M.; DESNEUX, N.. Environment: overhaul pesticide testing on bees. **Nature**, v. 497, n. 7448, p. 188, 2013.

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

DORNELES, A,L.; DE SOUZA R.A; BLOCHTEIN, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, v. 48, n. 5, p. 612-620, 2017.

DOS SANTOS, S.A.B.; ROSELINO, A.C.; BEGO, L.R. Pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L.(Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses. **Neotropical entomology**, v. 37, n. 5, p. 506-512, 2008.

EFSA, European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance cyflumetofen. **EFSA Journal**, v.10, n.1, p.2504, 2012.

FAIRBROTHER, A.; PURDY, J.; ANDERSON, T.; FELL, R. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 33, n. 4, p. 719-731, 2014.

FALCO, J.R.P.; HASHIMOTO, J.H.; FERMINO, F.; TOLEDO, V.A.A. Toxicity of thiamethoxam, behavioral effects and alterations in chromatin of *Apis mellifera* L, 1758 (Hymenoptera; Apidae). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 6, n. 6, p. 823-828, 2010.

FRANZ, J.E.; MAO, M.K.; SIKORSKI, J.A. **Glyphosate: a unique global herbicide**. American Chemical Society, 1997.

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.

FREITAS, B.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; MEDINA, L.M.; PEIXOTO, A.M.; GALLETTO, L.; NATES-PARRA, G.; QUEZADA-EUÁN, J.J.G. Diversity, threats and conservation of native bees in the neotropics. **Apidologie**, v.40, n.3, p.332-346, 2009.

GIANNINI, T.C.; CORDEIRO, G.D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 849-857, 2015.

GIROLAMI, V.; MAZZON, L.; SQUARTINI, A.; MORI, N.; MARZARO, M.; DI BERNARDO, A.; GREATTI, M.; GIORIO, C.; TAPPARO, A. Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 5, p. 1808-1815, 2009.

GRAJALES-CONESA, J.; MELÉNDEZ RAMÍREZ, V.; CRUZ-LÓPEZ, L.; SÁNCHEZ GUILLÉN, D. Effect of Citrus floral extracts on the foraging behavior of the stingless bee *Scaptotrigona pectoralis* (Dalla Torre). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, n. 1, p. 76-80, 2012.

GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; STARK, J.D.; DESNEUX, N. Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. **Annual Review of Entomology**, v. 61, p. 43-62, 2016.

HAYASHI, N.; SASAMA, Y.; TAKAHASHI, N.; IKEMI, N. Cyflumetofen, a novel acaricide—its mode of action and selectivity. **Pest Management Science**, v. 69, n. 9, p. 1080-1084, 2013.

HEARD, T.A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, v. 44, n. 1, p. 183-206, 1999.

HEINZOW, B.; ANDERSEN, H. R. Biocides and Pesticides. Biocides and Pesticides (Chapter 22). In: **Fundamental Toxicology**. Royal Society of Chemistry, 2006. p. 290-303.

HERBERT, L. H.; VÁZQUEZ, D. E.; ARENAS, A.; FARINA, W. M.. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, p. 3457-3464, 2014.

INGRAM, E.M.; AUGUSTIN, J.; ELLIS, M.D.; SIEGFRIED, B.D. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. **Chemosphere**, v. 135, p. 272-277, 2015.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present, and future. In: **Insecticides of plant origin, ACS symposium series No. 387**. Am. Chem. Soc., 1989. p. 1-10.

KINASIH, I.; NUGRAHA, R. S.; PUTRA, R. E.; PERMANA, A. D.; ROSMIATI, M. Toksisitas beberapa jenis fungisida komersial pada serangga penyerbuk, *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith. **Journal Entomology Indonesia**, v.14, n.1, p. 29, 2017.

KLEIN, A.M.; VAISSIÈRE, B.E.; CANE, J.H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

KRUG, C.; GARCIA, M.V.B.; GOMES, F.B. A scientific note on new insights in the pollination of guarana (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). **Apidologie**, v. 46, n. 2, p. 164-166, 2015.

LADURNER, E; BOSCH, J.; KEMP, W. P.; MAINI, S. Assessing delayed and acute toxicity of five formulated fungicides to *Osmia lignaria* Say and *Apis mellifera*. **Apidologie**, v.36. n. 3. P. 449-460. 2005.

LIMA, M.A.P.; MARTINS, G.F.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, R.N.C. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 202, n. 9-10, p. 733-747, 2016.

MACIEIRA, O. J. D.; PRONI, E.A. Capacidade de resistência a altas e baixas temperaturas em operárias de *Scaptotrigona postica* (Latreille)(Hymenoptera, Apidae) durante os períodos de verão e inverno Capacity of resistance to high and low temperatures in workers of *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae) during periods of summer and winter. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 4, p. 893-896, 2004.

MENEZES-PEDRO, S.R. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 348-354, 2014.

MORAES, S.S.; BAUTISTA, A.R.L.; VIANA, B. F. Acute toxicity studies of insecticides (DL50 e CL50) to *Scaptotrigona tubiba* (Smith) (Hymenoptera: Apidae): by contact route. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 31-37, 2000.

MOURA, A.P.; CARVALHO, G.A.; MOSCARDINI, V.F.; MARQUES, M.C.; SOUZA, J.R. Toxicidade de pesticidas recomendados na produção integrada de maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v.38, p.395-404, 2009.

NOGUEIRA-NETO, P. (1970). **A Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 2ª ed. São Paulo, SP: Chácaras e Quintais, 365 p.

CORREIA-OLIVEIRA, M.E.; PODEROSO, J.C.M.; FERREIRA, A.F.; DE OLINDA, R. A.; RIBEIRO, G. T. Impact of aqueous plant extracts on *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 59, n. 3, 2012.

PIRES, C.S.S.; DE MELLO PEREIRA, F.; DO RÊGO LOPES, M. T., NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, É. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422-442, 2016.

RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and *Trigonini*) and Africanized honeybees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. **Apidologie**, v. 21, n. 5, p. 469-488, 1990.

ROUBIK, D.W. **Pollination of cultivated plants in the tropics**. Food & Agriculture Org., 1995.

SLAA, E. J.,; CHAVES, L. A. S.; MALAGODI-BRAGA, K. S.; HOFSTEDE, F. E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 293-315, 2006.

SOARES, H.M.; JACOB, C.R.O.; CARVALHO, S.M.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Toxicity of imidacloprid to the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera: Apidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 94, n. 6, p. 675-680, 2015.

TOMÉ, H.V.V.; BARBOSA, W.F.; MARTINS, G.F.; GUEDES, R.N.C. Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide. **Chemosphere**, v. 124, p. 103-109, 2015.

VAN DER NAT, M.G.; VAN DER SLUIS, W.G.; DE SILVA, K.T.; LABADIE, R.P. Ethnopharmacognostical survey of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). **Journal Ethnopharmacol.** v. 35. n. 1. p. 24. 1991.

PADILLA VARGAS, P. J.; VÁSQUEZ-DÁVILA, M.A.; GARCÍA GUERRA, T. G.; ALBORES GONZÁLEZ, M.L. Pisilnekmej: una mirada a la cosmovisión, conocimientos y prácticas nahuas sobre *Scaptotrigona mexicana* en Cuetzalan, Puebla, México. **Etnoecológica**, v. 10, p. 37-40, 2014.

ARTIGO 2

EFEITO DA EXPOSIÇÃO DE *Nannotrigona testaceicornis* COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) A AGROTÓXICOS

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Sociobiology*, em versão na língua inglesa.

ANÁLISE DA EXPOSIÇÃO DE *Nannotrigona testaceicornis* COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) A PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS

Resumo: As abelhas são os mais importantes dos polinizadores, e estão expostas a uma gama de agrotóxicos ao forragear em cultivos agrícolas, durante e após a aplicação dos produtos fitossanitários, por meio do contato direto quando expostas a pulverização, indireta, através do contato com as folhas e flores contaminadas e ainda através do néctar e do pólen. O objetivo desse trabalho foi analisar o efeito da exposição de *Nannotrigona testaceicornis* a produtos fitossanitários através de três métodos de contaminação. Avaliou-se a sobrevivência e os efeitos subletais nas operárias utilizando os produtos fitossanitários azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem e difenoconazol, por contato, ingestão e aplicação tópica. Todos os produtos testados se mostram tóxicos as abelhas quanto aos efeitos subletais, porém, o inseticida clorpirifós foi extremamente tóxico quanto a letalidade e subletalidade. O herbicida glifosato causou baixa mortalidade, porém afetou o comportamento das abelhas. O acaricida ciflumetofem causou significativa mortalidade nas abelhas submetidas a dieta contaminada. O inseticida azadiractina e o fungicida difenoconazol não foram considerados tóxicos quanto a letalidade, porém as abelhas expostas a esses produtos apresentaram efeitos no comportamento.

Palavras-chave: Toxicidade, Meliponini, abelha sem ferrão, agrotóxico.

ANALYSIS OF THE EXPOSURE OF *Nannotrigona testaceicornis* COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) TO PHYTOSANITARY PRODUCTS

Abstract: Bees are the most important of pollinators, and are exposed to a range of pesticides when foraging on agricultural crops, during and after the application of phytosanitary products, through direct contact when exposed to indirect spraying, through contact with contaminated leaves and flowers and through nectar and pollen. The objective of this work was to analyze the effect of exposure of *Nannotrigona testaceicornis* to phytosanitary products through three means of contamination. Survival and sublethal effects on workers were evaluated using phytosanitary products azadirachtin, glyphosate, chlorpyrifos, cyflumetofen and difenoconazole, by means of contact, ingestion and topical application. All the tested products showed to be toxic to the sublethal effects, however, the chlorpyrifos insecticide was extremely toxic as to the lethality and subletality. The herbicide glyphosate caused a low mortality, but affected the behavior of the bees, the acaricide cyflumetofen caused significant mortality in bees submitted to a contaminated diet, the insecticide azadirachtin and the fungicide difenoconazole were not considered toxic for lethality, but bees exposed to these products showed behavioral effects.

Key words: Toxicity, Meliponini, stingless bee, herbicide.

INTRODUÇÃO

A diversidade biológica de polinizadores é de extrema necessidade para a polinização de plantas nativas e cultivadas (BAKER; HURD, 1968; GARIBALDI et al., 2013; ATHAYDE et al., 2016). Os polinizadores estão expostos a moléculas sintéticas ao visitarem flores, devido ao uso frequente de agrotóxicos para combate de pragas e doenças de culturas agrícolas (CHAUZAT et al., 2006; GIROLAMI et al., 2009). Novas moléculas são frequentemente desenvolvidas com o objetivo de controlar pragas (HAINZL; CASIDA, 1996), diante disso cada vez mais os polinizadores acabam sendo exposto a estas.

Perante o grande crescimento de áreas cultivadas que necessitam de uma crescente demanda por polinização por meio das abelhas sem ferrão (AIZEN; HARDER, 2009). As abelhas são responsáveis pela polinização de inúmeras espécies de plantas cultivadas, onde desempenham um papel imprescindível, onde é notória a importância das abelhas sem ferrão (BAKER; HURD, 1968; HERAD, 1999; JAFFÉ et al., 2015)

O uso inadequado de produtos fitossanitários constitui uma das práticas agrícolas altamente negativas sobre os polinizadores, pois afeta a diversidade, a abundância e a eficiência dos serviços de polinização (PINHEIRO; FREITAS, 2010; LIMA; ROCHA, 2012).

As abelhas como importantes polinizadores, estão expostas a esta ampla gama de agrotóxicos (MULLIN et al., 2010; LIMA; ROCHA et al., 2012; PETTIS et al., 2013;). A maior parte dos estudos sobre toxicidade de abelhas tem como objetivo avaliar os efeitos dos inseticidas (BLACQUIÈRE et al., 2012) mas as abelhas ao forragear em busca de alimento estão vulneráveis a exposição a diversos agrotóxicos, dentre eles herbicidas e fungicidas (SCHREINEMACHERS; TIPRAQSA, 2012).

Devido ao uso indiscriminado de agrotóxicos as populações de abelhas estão cada vez mais reduzidas, pois as abelhas são expostas a estas substâncias ao realizar a polinização em áreas que passam por pulverizações para controle de pragas e doenças, onde as abelhas são afetadas por contato e por ingestão de alimento contaminado (BRITTAIN; POTTS, 2011; FAIRBROTHER et al., 2014).

Nos testes quanto à sensibilidade de pesticidas usualmente utilizam-se as abelhas *A. mellifera*. Contudo mais trabalhos devem ser realizados com base nos

dados de toxicidade de vários estudos obtidos com outras espécies de abelhas (Apiformes) onde, mostrou-se necessário avaliar a sensibilidade das espécies de abelhas sem ferrão (Meliponini), as quais são mais suscetíveis quanto a exposição aos inseticidas (ARENA; SGOLASTRA, 2014).

A maior parte dos estudos ecotoxicológicos de pesticidas e seus efeitos letais e subletais restringem *A. mellifera* como objeto de estudo (TOMÉ et al., 2015a). Ainda são escassos trabalhos sobre toxicidade das abelhas sem ferrão, portanto alguns autores já relatam esses efeitos sobre *Melipona quadrifasciata* (TOMÉ et al., 2012; DEL SARTO et al., 2014; BARBOSA et al., 2015); *Trigona spinipes* (Macieira et al., 1989); *Scaptotrigona bipunctata* e *Tetragonisca fiebrigivan* (DORNELES et al., 2017); *Scaptotrigona tubiba* (MORAES et al., 2000); *Partamona helleri* e *S. xanthotricha* (TOMÉ et al., 2015); *Melipona scutellaris* (LOURENÇO et al. 2012); *Scaptotrigona postica* (SOARES et al., 2015; JACOB et al., 2015); *Plebeia droryana* (DOS SANTOS et al., 2016); *Partamona helleri* (BERNARDES et al. 2018). Nota-se uma possível subestimativa dos reais efeitos a estas espécies (BRITTAIN; POTTS, 2011; LIMA et al., 2016), corroborando com a revisão de Arena e Sgolastra (2014) onde afirmam a vulnerabilidade de outras espécies de abelhas não *Apis*.

Dentre as abelhas sem ferrão, *N. testaceicornis* mostrou-se eficiente na polinização de culturas, como a do pepino (SANTOS 2004; DOS SANTOS, ROSELINO; BEGO, 2008), morango (ROSELINO et al., 2009; MAETA et al., 1992) e tomate, onde esta foi eficiente para assegurar a produção de frutos (CAUICH, 2004).

As abelhas do gênero *Nannotrigona*, quando expostas aos inseticidas por via de exposição tópica se mostraram altamente susceptíveis (VALDOVINOS NÚÑES et al. 2009; XAVIER et al., 2010). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo verificar e comparar a proporção de abelhas campeiras mortas de *N. testaceicornis* quando expostas a produtos fitossanitários por vias de contato e ingestão.

MATERIAL E MÉTODOS

Bioensaios foram realizados com o intuito de testar os efeitos das doses recomendadas para cada praga no controle fitossanitário: azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem, difenoconazol, em operárias de *N. testaceicornis* (Tabela 1).

Discos de crias *N. testaceicornis* com adultos prestes a emergir foram coletados de colônias instaladas em caixas modelo INPA Instituto Nacional de pesquisa da Amazonia e postos em uma colmeia em laboratório, com abertura para a área externa. Quando as operárias atingiram a idade de 40 dias, foram coletadas na saída da colônia para montagem dos experimentos, garantindo assim uma padronização da idade dos indivíduos.

Tabela 1. Princípio ativo, classificação, dosagem máxima recomendada pelo fabricante (DMR) e grupo químico de produtos fitossanitários testados.

Princípio Ativo	Classificação	DMR ¹	Organismo Alvo ¹	Grupo Químico
Azadiractina	Inseticida	250 mL/100L	<i>Diaphorina citri</i>	Tetranortriterpenóide
Glifosato	Herbicida	1,0 L/100L	<i>Cyperus sesquiflorus</i>	Glicina substituída
Clorpirifós	Inseticida	100 mL/100L	<i>Orthezia praelonga</i>	Organofosforado
Ciflumetofem	Acaricida	40 mL/100L	<i>Brevipalpus phoenicis</i>	Benzoilacetoneitrila
Difenoconazol	Fungicida	20 mL/100 L	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Triazol

¹ em conformidade com o MAPA (2018).

Foram confeccionadas gaiolas plásticas (100 mm de diâmetro x 100 mm de altura) com duas perfurações laterais para encaixe de microtubos de centrifugação, preenchidos um com água e outro uma solução de sacarose a 50%. As partes superior e inferior da gaiola foram fechadas com placas de Petri (Figura 1).

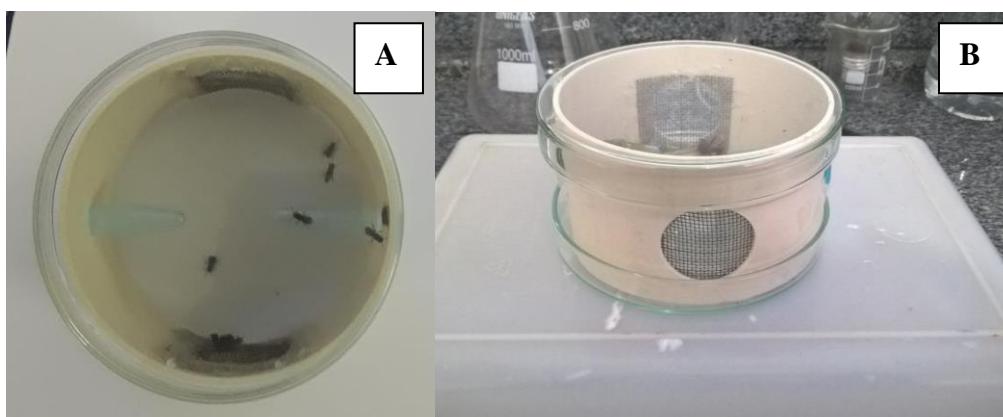


Figura1- Gaiolas contendo operárias de *Nannotrigona testaceicornis* com idade de campeiras, com base e tampa fechadas com placas de Petri e microtubos com água e alimento.

Utilizou-se os seguintes métodos:

- a) Por ingestão - a diluição recomendada de cada produto foi adicionada solução de sacarose a 50%, homogeneizado com bastão de vidro em Becker, e disponibilizado em microtubos de 2ml para as abelhas no interior das gaiolas por 96 horas;
- b) Por contato (Superfície contaminada) - a aplicação do produto foi realizada diretamente sobre placas de Petri, por meio de uma torre de pulverização, na dosagem recomendada. Após duas horas e meia de secagem em temperatura ambiente, as placas de Petri foram utilizadas na base das gaiolas.
- c) Aplicação tópica - os produtos nas dosagens recomendadas foram aplicados, por meio da torre de pulverização, diretamente sobre as abelhas, previamente anestesiadas no congelador a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 minutos.

Foi estabelecido um tratamento controle, utilizando apenas mel (ensaio de ingestão) e água (ensaios de contato), sem adição de produtos fitossanitários. Todos os tratamentos foram instalados em câmara tipo B.O.D. com temperatura ($28\pm 5^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa ($70\pm 5\%$) controlada. A mortalidade das abelhas foi avaliada nos intervalos de uma, duas, três, quatro, cinco, seis, nove, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72 e 96 horas após o início dos tratamentos (CARVALHO et al., 2009).

Os efeitos subletais foram avaliados através de observação do comportamento das operárias ao longo de toda a duração de cada bioensaio (96h). Os comportamentos observados, seguindo outros estudos similares, foram:

incapacidade de voo, letargia, tremores, agitação, paralisia, repelência da superfície e repelência do alimento (CARVALHO et al., 2009; INGRAM et al., 2015).

Análise estatística

Para a taxa de sobrevivência das abelhas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, no qual foram usados cinco produtos fitossanitários, um controle e três tipos de exposição, totalizando 18 tratamentos e cinco repetições. Para cada repetição 10 abelhas adultas foram utilizadas.

Os dados foram submetidos à análise de sobrevivência usando pacote Survival e submetidos à análise estatística no software R[®] (2016). Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier foram geradas para determinar a proporção de abelhas sobreviventes em função do tempo após a aplicação de produtos fitossanitários por via ingestão, por contato via superfície contaminada e por contato via tópica. O teste de Log Rank foi usado para testar a hipótese nula de que as curvas de Kaplan-Meier foram idênticas.

RESULTADOS

Efeitos letais de produtos fitossanitários sobre *Nannotrigona testaceicornis*

O clorpirifós foi o mais letal entre os produtos testados. Quando submetidas a dieta contaminada, as abelhas apresentaram 100% de mortalidade até às 96 horas, sendo que 50% das abelhas morreram até 21 horas após a exposição (Figura 2). No tratamento de contato por via direta com o clorpirifós causou a mortalidade de 100% das abelhas até às 96 horas, sendo que 50% das abelhas morreram até 36 horas após a exposição (Figura 3). Quando expostas a superfície contaminada foi necessário apenas 9 horas para proporcionar uma mortalidade de 50% das operárias (Figura 4).

As abelhas que ingeriram a dieta contaminada com glifosato, azadiractina, difenoconazol e ciflumetofem apresentaram sobrevivência de 94%, 92%, 68% e 58%, respectivamente, até às 96 horas após a exposição aos produtos contaminados. O glifosato causou a mortalidade de 6% das abelhas num intervalo de 12 a 48 horas após a exposição. A azadiractina causou uma mortalidade de 8%

das abelhas até as 30 horas após a exposição, nos demais horários não houve mortalidade. As abelhas expostas ao ciflumetofem apresentaram mortalidade de 42% entre 18 e 96 horas. O difenoconazol casou a mortalidade de 32% das abelhas entre seis e 96 horas após exposição, enquanto que as abelhas da testemunha não apresentaram mortalidade (Figura 2).

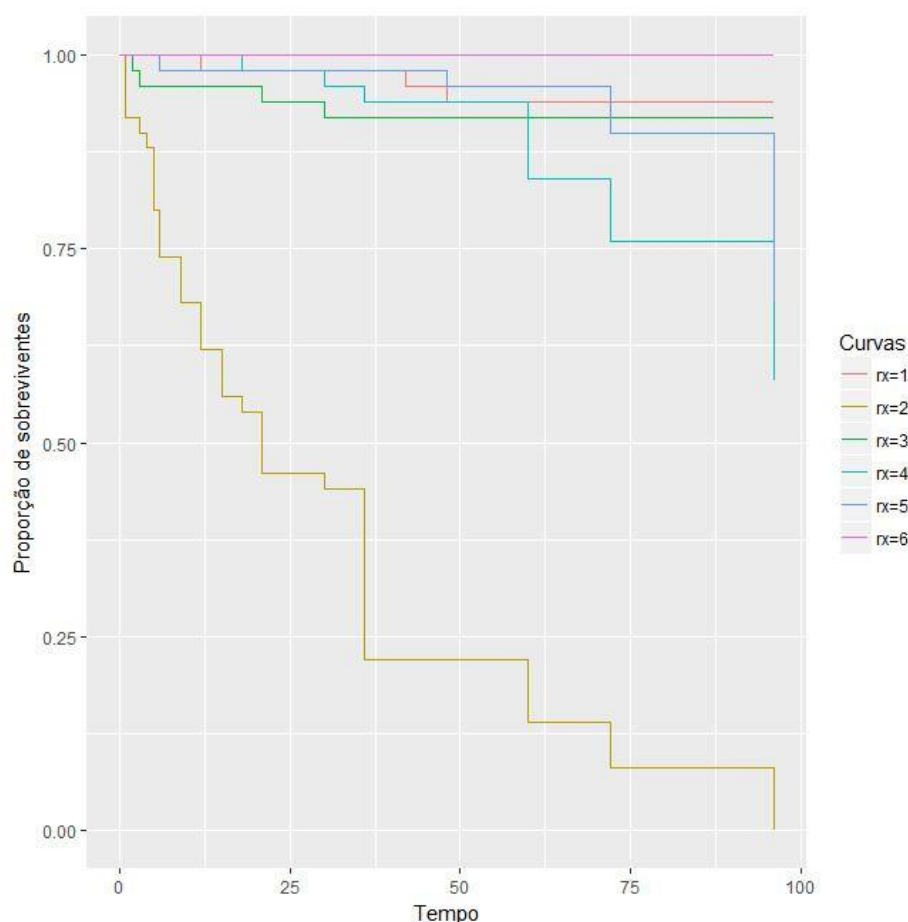


Figura 2. Curvas de sobrevivências traçadas a partir do tempo de exposição (horas) via ingestão até a morte sobre operárias de *Nannotrigona testaceicornis*: rx =1) Glifosato; rx= 2) Clorpirifós; rx=3) Azadiractina; rx=4) Ciflumetofem; rx=5) Difenoconazol; rx=6) Controle. As curvas indicam a mediana e o percentil de 95%, respectivamente.

As abelhas que tiveram o contato direto com os agrotóxicos através da aplicação tópica do ciflumetofem, difenoconazol, azadiractina e glifosato apresentaram sobrevivência de 92%, 92%, 82% e 78%, respectivamente, até às 96 horas após a exposição. As abelhas expostas ao ciflumetofem apresentaram mortalidade de 8% entre 18 e 96 horas, o difenoconazol casou a mortalidade de 8% entre duas e 72 horas após exposição, enquanto que as abelhas da testemunha não apresentaram mortalidade. A azadiractina causou uma mortalidade de 18% das

abelhas entre três e 72 horas após a exposição. O glifosato causou a mortalidade de 20% das abelhas num intervalo de duas e 48 horas após a exposição, não ocorrendo mortalidade nas horas seguintes até as 96 horas de observação (Figura 3).

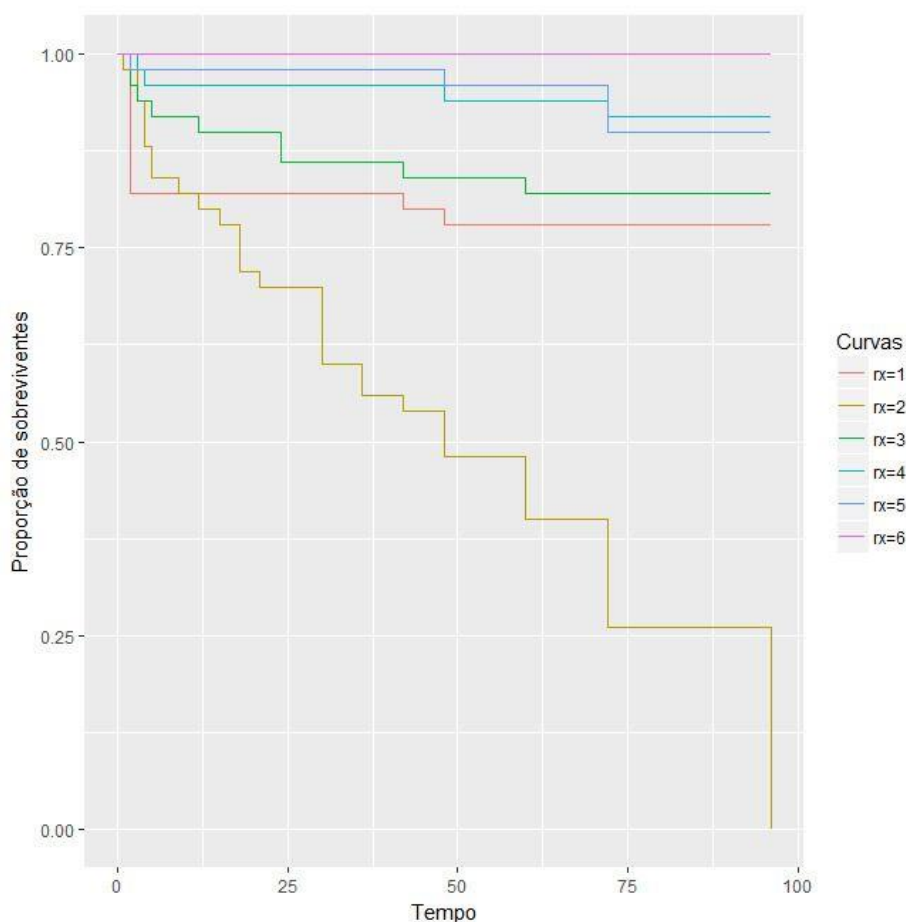


Figura 3. Curvas de sobrevivências traçadas a partir do tempo de exposição (horas) via aplicação tópica tendo contato direto sobre operarias de *Nannotrigona testaceicornis*: rx =1) Glifosato; rx= 2) Clorpirifós; rx=3) Azadiractina; rx=4) Ciflumetofem; rx=5) Difenoconazol; rx=6) Controle. As curvas indicam a mediana e o percentil de 95%, respectivamente.

As abelhas que tiveram contato com superfície contaminada com os agrotóxicos através da aplicação tópica da azadiractina, ciflumetofem, difenoconazol e glifosato apresentaram sobrevivência de 88%, 78%, 64% e 62%, respectivamente até às 96 horas após a exposição. O glifosato causou a mortalidade de 38% das abelhas num intervalo de duas a 30 horas após a exposição, não ocorrendo mortalidade nas horas seguintes até às 96 horas de observação. A azadiractina causou uma mortalidade de 12% das abelhas entre uma e 42 horas após a exposição, não ocorrendo mortalidade nas horas seguintes até às 96 horas de

observação. Abelhas expostas ao ciflumetofem apresentaram mortalidade de 22% entre três a 72 horas. O difenoconazol causou a mortalidade de 36% entre 60 a 96 horas após exposição, enquanto que as abelhas do controle não apresentaram mortalidade (Figura 4).

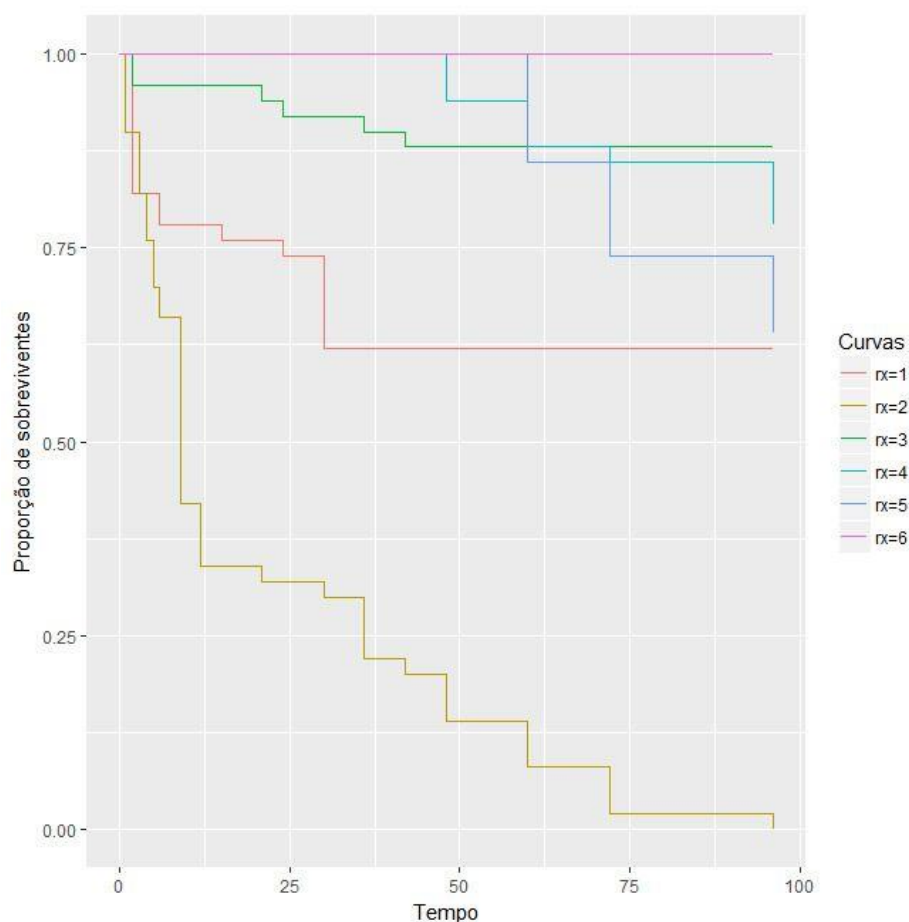


Figura 4. Curvas de sobrevivências traçadas a partir do tempo de exposição (horas) por aplicação tópica via superfície contaminada sobre operárias de *Nannotrigona testaceicornis*: rx =1) Glifosato; rx= 2) Clorpirifós; rx=3) Azadiractina; rx=4) Ciflumetofem; rx=5) Difenoconazol; rx=6) Controle. As curvas indicam a mediana e o percentil de 95%, respectivamente.

Efeitos subletais de produtos fitossanitários sobre *Nannotrigona testaceicornis*

Durante o estudo foram observadas alterações comportamentais em todos os tratamentos exceto nos controles, foi realizado um controle para cada tratamento. Ao longo das avaliações as abelhas expostas ao glifosato apresentaram comportamentos divergentes das operárias do controle, como, agitação, batimentos de asas e alterações na coordenação motora, a partir da primeira hora de avaliação, em todos os meios de exposição avaliados. As abelhas expostas ao clorpirifós apresentaram tremores e batimentos de asas constantes. Nas abelhas expostas à azadiractina, foi observado agitação, batimentos constantes de asas nas primeiras horas de avaliação alteração na coordenação motora a partir das 30 horas após a exposição, em todos os meios de exposição. O ciflumetofem, nos diferentes tipos de exposição causou comportamentos semelhantes, deixando as abelhas com batimento constantes de asas e a partir das 42 horas de exposição, outro comportamento observado foi repelência, onde as abelhas se aglomeraram na parte superior das gaiolas nas primeiras 15 horas de exposição. As abelhas expostas ao difenoconazol apresentaram efeitos no comportamento semelhantes aos apresentados nas abelhas expostas ao ciflumetofem, sendo que, as abelhas passaram a se aglomerar na parte superior das gaiolas a partir da segunda hora até 18 horas da exposição.

DISCUSSÃO

Os efeitos do clorpirifós pertencente ao grupo químico dos organofosforados, sobre *N. testaceicornis* foram observados minutos após a aplicação as abelhas já apresentavam distúrbios comportamentais e posteriormente morte, devido esse agrotóxico ser um produto neurotóxico, provocou extrema agitação, tremores, autolimpeza, caminhar de forma desordenada e posteriormente paralisia, corroborando com Freitas e Pinheiro (2010), que sugerem que estes efeitos devem ser observados quando as abelhas são expostas aos agrotóxicos. Da Silva et al. (2015) sugerem que os organofosforados atuam no sistema nervoso de forma irreversível, impedindo a ação da enzima acetilcolinesterase responsável pela transmissão do impulso nervoso. Alterações comportamentais também foram detectadas por LI et al. (2017), no qual este inseticida afetou a aprendizagem olfativa das espécies *A. mellifera* e *A. cerana*. Após apresentarem distúrbios

comportamentais, observou-se o efeito letal do clorpirifós, provocando a mortalidade de 100% das abelhas *N. testaceicornis* independente do tipo de exposição.

Os resultados obtidos corroboram com o trabalho de Thompson (2001) que determinou uma DL50 para *A. mellifera* e *Bombus* sp. quando submetidas a aplicação tópica de clorpirifós apresentando vulnerabilidade ao pesticida as 24 horas após a exposição tópica.

Por outro lado, estudos de Valdovinos-Núñez et al. (2009) verificaram que o organofosforado diazinona via aplicação tópica mostrou-se moderadamente tóxico para *Melipona beecheii*, *Trigona nigra* e *Nannotrigona perilampoides*. Estes autores ainda enfatizam que *perilampoides* foi mais resistente que as demais espécies, divergindo do presente trabalho, visto que o clorpirifós, pertencente ao grupo químico dos organofosforados, foi o produto que apresentou a maior toxicidade sobre *N. testaceicornis*.

A azadiractina não apresentou efeito letal sobre *N. testaceicornis* independente do tipo de exposição. O meio de contato direto apresentou uma mortalidade de 18% seguido da ingestão e do contato com a superfície, que apresentaram 12 e 8% de mortalidade respectivamente, corroborando com o trabalho de Bernardes et al. (2017), verificaram que a azadiractina, não causou alterações significativas na taxa de mortalidade de *Melipona quadrifasciata* e *Partamona helleri*. Tomé et al. (2015b) também avaliaram operárias de *quadrifasciata* expostas por via oral e a azadiractina causou 20% de mortalidade até 24 horas após exposição.

Resultados similares foram descritos por Xavier et al. (2010) que avaliaram *T. angustula* e *N. testaceicornis* e relataram a ausência de efeitos letais quando expostas à rotenona, óleo de andiroba, extrato de alho, óleo de neem, óleo de citronela e óleo de eucalipto por via contato com a superfície contaminada (folhas de abóbora). Os Bispo Conceição mesmos produtos testados por Xavier et al. (2015) sobre *A. mellifera* causaram efeitos letais e subletais, a azadiractina apresentou uma mortalidade de 60%, os mesmos autores relatam que os indivíduos apresentaram redução da atividade de caminhar. Similar ao presente trabalho onde a azadiractina sobre *N. testaceicornis* promoveu batimento de asas, agitação e alteração da coordenação motora. Assim como o trabalho de Tome et al. (2015) que ao avaliarem a toxicidade de azadiractina sobre *Partamona helleri* e *Scaptotrigona xanthotrica*, observaram um comprometimento no voo sugerindo que esse efeito compromete a o

fORAGEAMENTO. Diante disso pode-se notar que o mesmo produto promove alterações comportamentais e efeito letal de acordo com a espécie testada.

Efeitos não letais foram descritos recentemente por Bernardes et al. (2018) ao avaliar o efeito da azadiractina sobre rainhas de *helleri* relataram que este produto promove redução do tempo de vida, além de promover alterações morfológicas dos órgãos reprodutivos das rainhas testadas. Em *Bombus terrestris* foi observada uma inibição da capacidade reprodutiva quando a exposição via ingestão do produto (BARBOSA et al., 2015c).

O presente trabalho, ao avaliar a toxicidade sobre *N. testaceicornis* encontrou-se resultados que corroboram com estudos dos autores supracitados, que relataram baixos índices de mortalidade em abelhas quando expostas ao glifosato por via ingestão, apresentando 3,33 e 5,27% em *A. mellifera* e *T. angustula* respectivamente. Além disso, a capacidade de sinergismos do glifosato com outras moléculas possibilitando uma maior toxicidade (KUDSK; MATHIASSEN 2004, RENDÓN-VON OSTEN et al., 2005; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014).

Thompson et al. (2014) avaliaram o desenvolvimento larval de abelhas *A. mellifera* tratadas com alimentos contaminados com glifosato de 75 a 301 mg de glifosato por litro, diluído na solução de água e açúcar 50%. As mesmas não apresentaram mortalidade das larvas nem alteração do peso. Contudo, no presente trabalho ao avaliar operárias de *N. testaceicornis* obteve-se uma mortalidade de 6 % quando expostas via ingestão, entretanto quando expostas ao contato com a superfície contaminada, estas se mostraram mais vulneráveis apresentando uma mortalidade de 38% durante o período de exposição, porém a mortalidade só ocorreu até as 30 horas após a exposição.

O glifosato é um produto de ação sistêmica, utilizado para o controle de plantas indesejadas, inibindo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), interferindo assim na síntese de substâncias essenciais para o controle destas plantas, e esta enzima não está presente em animais, não sendo, portanto, possível a atuação desta forma em artrópodes (FRANZ et al., 1997; AMARANTE JUNIOR e SANTOS, 2002; TONI et al., 2006), porém este produto pode atuar na atividade da acetilcolinesterase que é uma enzima presente em animais, uma vez que Boily et al. (2013) detectaram distúrbios na acetilcolinesterase em abelhas *A. mellifera* expostas ao glifosato.

Sugere-se que o glifosato tenha ação neurotóxica, uma vez que, durante o estudo, foram observadas alterações comportamentais em todos meios de exposição. Apresentando extrema agitação, constantes batimentos de asas e alterações na coordenação motora, a partir da primeira hora de avaliação. Outros distúrbios foram mencionados a nível subletal por Balbuena et al. (2015), que relataram que em *A. melífera*, quando expostas por via ingestão, as abelhas tiveram sua capacidade de voo comprometida, assim como Herbert et al. (2014) afirmaram que as capacidades cognitivas e distúrbios de aprendizagem foram observados sobre *A. mellifera*.

Embora o glifosato tenha uma baixa toxicidade para os animais, o seu uso cada vez mais frequente torna-se preocupante onde Ruiz-Toledo e Sánchez-Guillén, (2014) sugerem a existência de efeitos a diversos organismos, dentre eles as abelhas.

O ciflumetofem sobre *N. testaceicornis* mostrou-se tóxico por via de ingestão promovendo uma mortalidade de 44%. Sugere-se que essa mortalidade deve-se à capacidade de metabolização do ciflumetofem em meio líquido, uma vez que esse produto, em função do tempo e dependendo do meio em que está inserido, pode se metabolizar em moléculas mais tóxicas do que a própria molécula do ciflumetofem (HAYASHI et al., 2013). O ciflumetofem é um produto relativamente novo, utilizado no controle de ácaros em frutas, legumes e flores, atua na inibição do transporte de elétrons do complexo mitocondrial II, que é responsável pela respiração celular, sendo considerados seguros para vertebrados e insetos (TAKAHASHI et al., 2012). O ciflumetofem possui um metabólito de ação AB-1, contudo este metabólito se mostrou ineficiente na inibição do complexo II mitocondrial em *A. melífera*, o que sugere um efeito relativamente baixo para estes insetos (Hayashi et al., 2013).

Por outro lado, no presente trabalho, o difenoconazol sobre *N. testaceicornis* se mostrou tóxico, quando expostas ao contato com a superfície e dieta contaminada com o produto, apresentando mortalidade de 36% e 32% respectivamente até às 96 horas de exposição. Além de causar efeitos sobre a sobrevivências das abelhas, observou-se que após duas horas de exposição, as abelhas apresentavam uma certa repelência, se aglomerando na parte superior das gaiolas, com constantes batimentos de asas e agitação, porém, apresentam comportamento similar à testemunha após 18 horas da exposição. Sugere-se que o difenoconazol causou efeitos mais tóxicos nas primeiras horas de exposição devido

a degradação do produto ao longo do tempo ou até uma possível desintoxicação pelas abelhas através das glutathione-S-transferases (GSTs), como relatado por Claudianos et al. (2006) com *A. mellifera*.

O difenoconazol por se tratar de um fungicida, se desconhece o sitio de ação em abelhas, porém, é considerado um pesticida de ação rápida e atividade sistêmica (DONG et al., 2013). Contudo, Johansen (1966) relatou o potencial toxicológico de 92 produtos sobre abelhas nativas, mais especificamente no litoral ocidental da América do Norte. O mesmo afirma que a toxicidade dos fungicidas triazóis inexistente. Corroborando com Pilling e Jepson (1993) que afirmam que os fungicidas deste grupo químico são geralmente considerados não tóxicos para abelhas.

Mao et al. (2017) sugerem que os fungicidas do grupo químico dos triazóis também são capazes de inibir as monooxigenases do citocromo P450 que inibem a ação de fitoquímicos (flavonoides) no mel e no pólen, interferindo na desintoxicação da quercetina, que é responsável pela regeneração mitocondrial, e produção de ATP, o que possivelmente está relacionado como efeito letal apresentado um desgaste excessivo onde as abelhas que possivelmente gastaram suas reservas energéticas levando-as a morte. Bem como, Syromyatnikov et al. (2017) ao avaliarem a ação de fungicidas no metabolismo mitocondrial dos músculos responsáveis pelo voo de *Bombus terrestris*, relataram que o difenoconazol, que pertence ao grupo dos triazóis, foi responsável pela inibição do transporte de elétrons ao nível do complexo I e glicerol-3-fosfato desidrogenase.

O efeito da exposição via ingestão foi o mais tóxico, esta toxicidade pode estar relacionada ao efeito residual do difenoconazol devido à capacidade de penetração no alimento das abelhas, uma vez que é um produto de ação sistêmica (KUBIK et al., 2000).

CONCLUSÃO

O ingrediente ativo clorpirifós foi extremamente tóxico quanto à letalidade e subletalidade; o glifosato causou baixa mortalidade, porém afetou o comportamento das abelhas; o ciflumetofem causou mortalidade significativa nas abelhas submetidas à dieta contaminada; a azadiractina e o difenoconazol não são considerados tóxicos quanto a letalidade, porém as abelhas expostas a esses produtos apresentaram alteração no comportamento. Todos os produtos testados

mostraram toxicidade ao nível subletal, provocando distúrbios comportamentais nas abelhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIZEN, M.A.; GARIBALDI, L.A.; CUNNINGHAM, S.A.; KLEIN, A.M. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. **Annals of Botany**, v.103, n.9, p.1579-1588, 2009.

AMARANTE JUNIOR, O.P.; DOS SANTOS, T.C.R.; BRITO, N.M.; RIBEIRO, M.L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v.25, n.4, p. 589-593, 2002.

ANDRADE JUNIOR, E.R.; GALBIERI, R. Eficiência de fungicidas no controle de mancha de ramulária em algodoeiro, na safra 2013/14 no Mato Grosso. **Circular técnica n**, v.12, 2014.

ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v.23, n.3, p.324-334, 2014.

ATHAYDE, S.; STEPP, J.R.; BALLESTER, W.C. Engaging indigenous and academic knowledge on bees in the Amazon: implications for environmental management and transdisciplinary research. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.12, n. 1, p.26, 2016.

BAKER, H.G.; HURD JR, P.D. Intrafloral ecology. **Annual Review of Entomology**, v.13, n.1, p.385-414, 1968.

BALARDIN, R. **Fungicidas sistêmicos: benzimidazóis, triazóis e estrobilurinas**. 2015. Disponível em: <<https://phytusclub.com/materiais-didaticos/fungicidassistemicos-benzimidazois-triazois-e-estrobilurinas/>>. Acesso: 24 jan. 2018.

BALBUENA, M.S.; TISON, L.; HAHN, M.L.; GREGGERS, U.; MENZEL, R.; FARINA, W. M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, v.218, n.17, p.2799-2805, 2015.

BAPTISTA, A.P.M.; CARVALHO, G.A.; CARVALHO, S.M.; CARVALHO, C.F.; FILHO, J.S.S.B. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera*. **Revista Ciência Rural**, v.39, n.4, p.955-961, 2009.

BARBOSA, W.F.; TOMÉ, H.V.V.; BERNARDES, R.C.; SIQUEIRA, M.A.L.; SMAGGHE, G.; GUEDES, R.N.C. Biopesticide-induced behavioral and morphological alterations in the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n.9, p.2149-2158, 2015a.

BARBOSA, W.F.; DE MEYER, L.; GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). **Ecotoxicology**, v.24, n.1, p.130-142, 2015b.

BERNARDES, R.C.; BARBOSA, W.F.; MARTINS, G.F; LIMA, M.A.P. The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1900) queens. **Chemosphere**, v.201, p.550-556, 2018.

BERNARDES, R.C; TOMÉ, H.V; BARBOSA, W.F; GUEDES, R.N; LIMA, M.A.P. Azadirachtin-induced antifeeding in Neotropical stingless bees. **Apidologie**, v.48, n. 3, p.275-285, 2017.

BLACQUIÈRE, T.; SMAGGHE, G.; GESTEL, C.A.M.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, sideeffects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v.21, p.973-992, 2012.

BOILY, M.; SARRASIN, B.; DEBLOIS, C.; ARAS, P.; CHAGNON, M. Acetylcholinesterase in honey bees (*Apis mellifera*) exposed to neonicotinoids, atrazine and glyphosate: laboratory and field experiments. **Environmental Science and Pollution Research**, v.20, n.8, p. 5603-5614, 2013.

BRITTAİN, 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.

CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. 2013. Meliponini Lepeletier, 1836. In MOURE, J.S.; URBAN, D.; MELO, G.A.R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. <Available at <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>>. Acesso: 03 Jun 2018

CARVALHO, S.M.; CARVALHO, G.A; CARVALHO, C.F.; BUENO FILHO, J.S.S.; BAPTISTA, A.P.M. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1978 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.4, p.597-606, 2009.

CAUICH, O.; QUEZADA-EUÁN, J.J.G.; MACIAS-MACIAS, J.O.; REYES-OREGEL, V.; MEDINA-PERALTA, S.; PARRA-TABLA, V. Behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 2, p. 475-481, 2004.

CHAUZAT, M.P.; FAUCON, J.P.; MARTEL, A.C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N.; AUBERT, M. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. **Journal of Economic Entomology**, v.99, p.253-262, 2006.

CLAUDIANOS, C.; RANSON, H.; JOHNSON, R.M.; BISWAS, S.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M.R.; OAKESHOTT, J.G.A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n.5, p.615-636, 2006.

DA SILVA, I.P.; OLIVEIRA, F.A.S.; PEDROZA, H.P.; GADELHA, I.C.N.; MELO, M.M.; SOTO-BLANCO, B. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v.46, n. 6, p.703-715, 2015.

DEL SARTO, M.C.L.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, R.N.C.; CAMPOS, L.A.O. Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, v.45, n.5, p.626–36, 2014.

DONG, F.; LI, J.; CHANKVETADZE, B.; CHENG, Y.; XU, J.; LIU, X.; ZANASI, R. Chiral triazole fungicide difenoconazole: absolute stereochemistry, stereoselective bioactivity, aquatic toxicity, and environmental behavior in vegetables and soil. **Environmental Science & Technology**, v.47, n.7, p. 3386-3394, 2013.

DORNELES, A.L.; DE SOUZA R.A; BLOCHTEIN, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, v.48, n.5, p. 612-620, 2017.

DOS SANTOS, C.F.; ACOSTA, A.L.; DORNELES, A.L.; DOS SANTOS, P.D.; BLOCHTEIN, B. Queens become workers: pesticides alter caste differentiation in bees. **Scientific Reports**, v. 6, p. 31605, 2016.

DOS SANTOS, S.A.B.; ROSELINO, A.C.; BEGO, L.R. Pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L.(Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona* aff. *depilis* moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in greenhouses. **Neotropical entomology**, v.37, n.5, p. 506-512, 2008.

FISHEL, F.M. Pesticide toxicity profile: Triazole pesticides. **University of Florida, IFAS extension. PI68**, 2005.

FRANZ, J.E.; MAO, M.K.; SIKORSKI, J.A. **Glyphosate: a unique global herbicide**. American Chemical Society, 1997.

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.

GARIBALDI, L. A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; KREMEN, C.; MORALES, J.M.; BOMMARCO, R.; CUNNINGHAM, S.A.; CARVALHEIRO, L.G.; CHACOFF, N.P.; DUDENHOEFFER, J.H.; GREENLEAF, S.S.; HOLZSCHUH, A.; ISAACS, R.; KREWENKA, K.; MANDELIK, Y.; MAYFIELD, M.M.; MORANDIN, L.O.; POTTS, S.G.; RICKETTS, T.H.; SZENTGYÖRGYI, H.; VIANA, B.F.; WESTPHAL, C.;

WINFREE, R.; KLEIN, A.M. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. **Ecology Letters**, v. 14, n. 10, p. 1062-1072, 2011.

GIROLAMI, V.; MAZZON, L.; SQUARTINI, A.; MORI, N.; MARZARO, M.; DI BERNARDO, A.; GREATTI, M.; GIORIO, C.; TAPPARO, A. Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.1808-1815, 2009.

HAINZL, D.; CASIDA, J.E. Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 23, p. 12764-12767, 1996.

HAYASHI, N.; SASAMA, Y.; TAKAHASHI, N.; IKEMI, N. (2013) Cyflumetofen, a novel acaricide—its mode of action and selectivity. **Pest Management Science**, v.69, n.9, p.1080-1084, 2013.

HEARD, T.A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual review of entomology**, v.44, n.1, p.183-206, 1999.

HERBERT, L. H.; VÁZQUEZ, D. E.; ARENAS, A.; FARINA, W. M.. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **J. Experimental Biology**, v.217, p.3457-3464, 2014.

INGRAM, E.M.; AUGUSTIN, J.; ELLIS, M.D.; SIEGFRIED, B.D. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. **Chemosphere**, v.135, p.272-277, 2015.

JACOB, C.R.; SOARES, H.M.; NOCELLI, R.C.; MALASPINA, O. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Pest Management Science**, v.71, n.1, p.114-122, 2015.

JAFFÉ, R.; POPE, N, CARVALHO, A. T.; MAIA, U. M.; BLOCHTEIN, B.; CARVALHO, C.A.L.; CARVALHO-ZILSE, G. A.; FREITAS, M.B.; MENEZES, C.; RIBEIRO, M.F.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **PloS one**, v.10, n.3, p.21-157, 2015.

JOHANSEN, C.A. Digest on Bee Poisoning, its Effects and Prevention: With an annotated list of 92 insecticides. **Bee World**, v.47, n.1, p.9-25, 1966.

KUBIK, M.; NOWACKI, J.; PIDEK, A.; WARAKOMSKA, Z.; MICHALCZUK, L.; GOSZCZYŃSKI, W.; DWUŹPNIK, B. Residues of captan (contact) and difenoconazole (systemic) fungicides in bee products from an apple orchard. **Apidologie**, v.31, n.4, p.531-541, 2000.

KUDSK, P.; MATHIASSEN, S. K. Joint action of amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides. **Weed Research**, v.44, n.4, p.313-322, 2004.

LI, Z. G. Effects of sublethal concentrations of chlorpyrifos on olfactory learning and memory performances in two bee species, *Apis mellifera* and *Apis cerana*. **Sociobiology**. v. 64. n.2. p. 174-181.2017.

LIMA, M. C.; ROCHA, S. A. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil. **Brasília: Ibama**, 2012.

LIMA, M.A.P.; MARTINS, G.F.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, R.N.C. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A**, v.202, n.9-10, p.733-747, 2016.

LOURENÇO, C. T.; CARVALHO, S. M.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Oral toxicity of fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v.89, n.4, p. 921-924, 2012.

MACIEIRA, O. J. D.; PRONI, E.A. Capacidade de resistência a altas e baixas temperaturas em operárias de *Scaptotrigona postica* (Latreille)(Hymenoptera, Apidae) durante os períodos de verão e inverno Capacity of resistance to high and low temperatures in workers of *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera, Apidae) during periods of summer and winter. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.21, n.4, p.893-896, 2004.

MAETA, Y.; TEZUKA, H.; SUSUKI, K. Utilisation of the Brazillian stingless bee, *Nannotrigona testaceicornis* as a pollinator of strawberries. **Honeybee Sci.**, 1992.

MAO, W.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Disruption of quercetin metabolism by fungicide affects energy production in honey bees (*Apis mellifera*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.114, n.10, p.2538-2543, 2017.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit: sistema de Agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 12 ago. 2018.

MORAES, S.S.; BAUTISTA, A.R.L.; VIANA, B. F. Acute toxicity studies of insecticides (DL50 e CL50) to *Scaptotrigona tubiba* (Smith)(Hymenoptera: Apidae): by contact route. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.1, p.31-37, 2000.

MULLIN, C.A.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.L.; ASHCRAFT, S.; SIMONDS, R.; VANENGELSDORP, D.; PETTIS, J.S. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **PLoS One**, v.5, 2010.

NASCIMENTO, E.T.; PÉREZ-MALUF, R.; GUIMARÃES, R.A.; CASTELLANI, M. A. Diversidade de abelhas visitantes das flores de *citrus* em pomares de laranja e tangerineira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.1, p.111-117, 2011.

NASCIMENTO, W.M.; GOMES, E.M.L.; BATISTA, E.A; FREITAS, R.A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.3, p.494-498, 2012.

PETTIS, J. S.; LICHTENBERG, E. M.; ANDREE, M.; STITZINGER, J.; ROSE, R. Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. **PloS one**, v.8, n.7, p.e70182, 2013.

PILLING, E.D.; JEPSON, P.C. Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). **Pesticide Science**, v.39, n.4, p.293-297, 1993.

PINHEIRO, J.N.; FREITAS, B.M. Efeitos dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v.14, p.266-281, 2010.

R Development Core Team R: **A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna 2016. Disponível em:<<http://www.R-project.org/>>. Acesso: 05 fev. 2018.

RENDÓN-VON OSTEN, J.; ORTIZ-ARANA, A.; GUILHERMINO, L.; SOARES, A.M.V.M. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatanana*) exposed to pesticides. **Chemosphere**, v. 58, n. 5, p. 627-636, 2005.

RIBEIRO, G.S.; ALVES, E.M.; CARVALHO, C.A.L. Biology of pollination of *Citrus sinensis* variety 'pera rio'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.39, n.2, p.e-033, 2017.

ROSELINO, A.C.; DOS SANTOS, S.A.B.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, v.8, n.2, 2010.

ROSELINO, A.C.; SANTOS, S.B.; HRNCIR, M.; BEGO, L. R. Differences between the quality of strawberries (*Fragaria x ananassa*) pollinated by the stingless bees

Scaptotrigona aff. depilis and Nannotrigona testaceicornis. **Genetics and Molecular Research**, v.8, n.2, p.539-545, 2009.

RUIZ-TOLEDO, J.; SÁNCHEZ-GUILLÉN, D. Efecto de la concentración de glifosato presente en cuerpos de agua cercanos a campos de soya transgénica sobre la abeja *Apis mellifera* y la abeja sin aguijón *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**, v.30, n.2, p.408-413, 2014.

RUNDLÖF, M.; ANDERSSON, G.K.; BOMMARCO, R.; FRIES, I.; HEDERSTRÖM, V.; HERBERTSSON, L.; JONSSON, O.; KLATT, B.K.; PEDERSEN, T.R.; YOURSTONE, J.; SMITH, H.G. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. **Nature**, v.521, n.7550, p.77, 2015.

SANCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Pesticide residues and bees—a risk assessment. **PloS one**, v.9, n.4, p.e94482, 2014.

SCHREINEMACHERS, P.; TIPRAQSA, P. Prasnee. Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. **Food Policy**, v.37, n.6, p.616-626, 2012.

SOARES, H.M.; SOARES, H.M.; JACOB, C.R.O.; CARVALHO, S.M.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Toxicity of Imidacloprid to the Stingless Bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera: Apidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, p.1-6, 2015.

SOUSA, J.R.L.; DE AMARANTE JR, O.P.; BRITO, N.M.; SANTOS FRANCO, T.C.R. Ação de pesticidas sobre abelhas: avaliação do risco de contaminação de méis. **Acta Tecnológica**, v.8, n.1, p.28-36, 2013.

SYROMYATNIKOV, M. Y. KOKINA, A. V.; LOPATIN, A.V.; STARKOV, A. A.; POPOV, V.N. Evaluation of the toxicity of fungicides to flight muscle mitochondria of bumblebee (*Bombus terrestris* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.135, p.41-46, 2017.

TAKAHASHI, N.; NAKAGAWA, H.; SASAMA, Y.; IKEMI, N. Development of a new acaricide, cyflumetofen. **Journal of Pesticide Science**, v.37, n.3, p.263-264, 2012.

THOMPSON, H. M.; LEVINE, S. L.; DOERING, J.; NORMAN, S.; MANSON, P.; SUTTON, P.; VON MÉREY, G.; Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an example. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v.10, n.3, p. 463-470, 2014.

TOMÉ, H.V.V.; BARBOSA, W.F.; CORRÊA, A.S.; GONTIJO, L.M.; MARTINS, G.F.; GUEDES, R.N.C. Reduced-risk insecticides in Neotropical stingless bee species: impact on survival and activity. **Annals of Applied Biology**, v.167, n.2, p.186-196, 2015.

TOMÉ, H.V.V.; BARBOSA, W.F.; MARTINS, G.F.; GUEDES, R.N.C. Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide. **Chemosphere**, v.124, p.103-109, 2015.

TONI, L.R.; DE SANTANA, H.; ZAIA, D.A. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, v.29, n.4, p.829, 2006.

VALDOVINOS-NÚÑEZ, G. R.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G.; ANCONA-XIU, P.; MOO-VALLE, H.; CARMONA, A.; SÁNCHEZ, E. R. Comparative toxicity of pesticides to stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Economic Entomology**, v.102, n.5, p.1737-1742, 2009.

XAVIER, V.M.; MESSAGE, D.; PICANÇO, M.C.; CHEDIAK, M.; SANTANA JÚNIOR, P.A.; RAMOS, R.S.; MARTINS, J.C. Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. **Journal of Insect Science**, v.15, n.1, 2015.

XAVIER, V. M.; PICANÇO, M. C.; BACCI, L.; SILVA, G. A.; BENEVENUTE, J. D. S. Impact of botanical insecticides on indigenous stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v.56, n.3, p.713-726, 2010.

YÁÑEZ, K.P.; BERNAL, J.L.; NOZAL, M.J.; MARTÍN, M.T.; BERNAL, J. Determination of seven neonicotinoid insecticides in beeswax by liquid chromatography coupled to electrospray-mass spectrometry using a fused-core column. **Journal of chromatography A**, v.1285, p.110-117, 2013.

ARTIGO 3

**VELOCIDADE MÉDIA DE DESLOCAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE
PROTEÍNA TOTAL EM OPERÁRIAS DE *Scaptotrigona xanthotricha* MOURE, 1950
E *Nannotrigona testaceicornis* COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE)
EXPOSTAS A AGROTÓXICOS.**

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico *Sociobiology*, em versão na língua inglesa.

VELOCIDADE MÉDIA DE DESLOCAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL EM OPERÁRIAS DE *Scaptotrigona xanthotricha* MOURE, 1950 E *Nannotrigona testaceicornis* COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) EXPOSTAS A AGROTÓXICOS.

Resumo: O uso frequente de pesticidas é uma das principais causas do declínio dos polinizadores. No entanto, a maioria dos estudos visam os efeitos letais. Entretanto, efeitos subletais podem provocar sérios danos às colmeias, uma vez que estes são mais difíceis de serem detectados. O objetivo do presente trabalho foi realizar a avaliação da toxicidade sobre velocidade média e a quantificação de proteína total das espécies *Scaptotrigona xanthotricha* Moure, 1950 e *Nannotrigona testaceicornis* Cockerell, 1922. Após exposição via oral e tópica aos agrotóxicos: azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem e difenoconazol. Foi avaliado o fototropismo em função do tempo para todos os produtos testados, que se mostraram tóxicos promovendo uma redução da velocidade média das abelhas. A quantificação de proteína total foi outra alteração subletal apresentada pelas operárias, onde seus níveis proteicos variaram em função do tempo de exposição. Os inseticidas clorpirifós e azadiractina provocam os maiores distúrbios comportamentais dentre os produtos testados.

Palavras-chave: toxicidade, subletal, abelhas sem ferrão.

AVERAGE SPEED AND QUANTIFICATION OF TOTAL PROTEIN IN OPERATIONS OF *Scaptotrigona xanthotricha* MOURE, 1950 E *Nannotrigona*

***testaceicornis* COCKERELL, 1922 (HYMENOPTERA: APIDAE) SUBMITTED TO
FIVE PHYTOSANITARY PRODUCTS**

Abstract: Frequent use of pesticides is a major cause of declining pollinators. However, most studies target lethal effects. However, sublethal effects can cause serious damage to hives, since hives are harder to detect. The objective of the present work was to evaluate the mean velocity toxicity and the total protein quantification of the species *Scaptotrigona xanthotricha* Moure, 1950 and *Nannotrigona testaceicornis* Cockerell, 1922. After oral and topical exposure to agrochemicals: azadirachtin, glyphosate, chlorpyrifos, ciflumetofen and diphenconazole. Phototropism was evaluated as a function of time for all the tested products, which proved to be toxic, promoting a reduction in the average velocity of the bees. The quantification of total protein was another sublethal alteration presented by workers, where their protein levels varied according to the time of exposure. The insecticides chlorpyrifos and azadirachtin cause the greatest behavioral disturbances among the products tested.

Key words: toxicity, sublethal, stingless bees.

INTRODUÇÃO

As abelhas são os insetos polinizadores mais conhecidos e estudados mundialmente (HANULA; ULYSHEN; HORN, 2016), destacando-se como os principais agentes polinizadores de espécies nativas e cultivadas (RASMUSSEN; CAMERON, 2010; GARIBALDI et al., 2015). As abelhas sem ferrão apesar do reconhecimento da sua importância como polinizadoras, também possuem potencial para a criação voltada para a produção (JAFFÉ et al., 2015).

A demanda para polinização de culturas praticamente triplicou nos últimos 50 anos. Diante disso, a necessidade de polinização é tão notável a ponto de uma "crise de polinização" poder estar próxima, uma vez que a perda de habitat, diminuição de recursos florais, parasitas, patógenos e o uso cada vez mais frequente de pesticidas tendem a agravar mais ainda esta possível "crise" (GOULSON et al. 2015). Portanto, as abelhas estão em declínio, provavelmente, devido aos efeitos da combinação de fatores como a perda de habitat, patógenos e exposição aos produtos fitossanitários e outros xenobióticos (GALLAI et al., 2009; TOMÉ et al., 2012; van der SLUIJS et al., 2013; COSTA et al., 2014; LIMA-VERDE et al., 2014, GOULSON; HUGHES, 2015 GARIBALDI et al., 2015).

O uso frequente de pesticidas é uma das principais causas do declínio dos polinizadores (KLEIN et al. 2007; POTTS et al. 2010; NAKASU et al., 2014). No entanto vários efeitos são estudados como letais e subletais, relatando várias consequências além da mortalidade, como distúrbios comportamentais (RORTAIS et al 2005; DESNEUX et al., 2007; ARENA e SGOLASTRA, 2014; FAIRBROTHER et al. 2014; GODFRAY et al., 2014 STAVELEY et al. 2014).

Os produtos fitossanitários estão na pauta de discussão como um dos principais responsáveis pelo desaparecimento das abelhas (GODFRAY et al., 2014). Para *A. mellifera* foi relatado por Budge et al. (2015) que existe uma relação positiva entre o uso de inseticidas com perdas de colônias, visto que é comum a presença de resíduos de pesticidas em produtos da colônia dentre eles mel e pólen (CHAUZAT et al., 2006; BERNAL et al., 2010; DIVELY; KAMEL, 2012; KASIOTIS et al. 2014; GUEDES et al., 2016).

A escassez de informações sobre as ações dos agrotóxicos e os reais efeitos sobre as abelhas nativas é notória. Alguns autores sugerem a vulnerabilidade

das abelhas sem ferrão (TOMÉ et al. 2012; ARENA; SGOLASTRA 2014; DEL SARTO et al. 2014; BARBOSA et al., 2015a, 2015c; TOMÉ et al., 2015a; TOMÉ et al., 2015b).

Os efeitos letais são os mais estudados, mas os efeitos subletais começam a ganhar importância visto que alguns autores observaram severos distúrbios que podem inativar e até mesmo levar à morte desses indivíduos, ressaltando assim importância de novos estudos destes efeitos (DESNEUX et al., 2007; JOHNSON 2015; GUEDES et al., 2016; LIMA et al., 2016), uma vez que as abelhas estão expostas a doses subletais presentes no pólen, néctar e outras secreções vegetais coletadas (BLACQUIÈRE et al., 2012; RUNDLÖF et al., 2015).

A maioria dos testes de toxicidade com abelhas estão relacionados com a toxicidade aguda dos produtos fitossanitários, não considerando a mortalidade de forma indireta devido a alterações no comportamento das abelhas, além da capacidade de alterações fisiológicas (MEDRZYCHI et al., 2003; DESNEUX et al., 2007; LI et al., 2017), ou efeitos subletais como apoptose e autofagia celular do cérebro de abelhas adultas, além de deformações mitocondriais (WU et al., 2015).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar a avaliação da velocidade média e a quantificação de proteína total das espécies *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis* após exposição via oral e tópica aos agrotóxicos: azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem e difenoconazol.

MATERIAL E MÉTODOS

Discos de crias de *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis* com adultos prestes a emergir foram coletados de colônias instaladas em caixas modelo INPA e postos em uma colmeia em laboratório, com abertura para a área externa. Quando as operárias atingiram a idade de 40 dias foram coletadas na saída da colônia para instalação dos experimentos, garantindo assim uma padronização da idade dos indivíduos.

Os bioensaios foram realizados para testar os efeitos velocidade média de deslocamento e quantificação de proteína total em operárias, quando submetidas aos produtos azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem, difenoconazol (Tabela 1).

Tabela 1. Princípio ativo, classificação, dosagens recomendadas pelo fabricante (DMR) e grupo químico de produtos fitossanitários testados.

Princípio Ativo	Classificação	DMR ¹	Organismo Alvo ¹	Grupo Químico
Azadiractina	Inseticida	250 mL/100L	<i>Diaphorina citri</i>	Tetranortriterpenóide
Glifosato	Herbicida	1,0 L/100L	<i>Cyperus sesquiflorus</i>	Glicina Substituída
Clorpirifós	Inseticida	100 mL/100L	<i>Orthezia praelonga</i>	Organofosforado
Ciflumetofem	Acaricida	40 mL/100L	<i>Brevipalpus phoenicis</i>	Benzoilacetoneitrila
Difenoconazol	Fungicida	20 mL/100 L	<i>Colletotrichum Gloeosporioides</i>	Triazol

¹ em conformidade com o MAPA (2018).

Efeitos subletais sobre operárias da exposição via aplicação tópica

O comportamento das abelhas quanto à coordenação motora foi avaliado por meio do fototropismo em função do tempo, no qual as abelhas após exposição aos tratamentos foram avaliadas utilizando-se uma caixa de metal e acrílico (50 x 5 x 4 cm) adaptada de Lambin et al. (2001). A caixa foi composta por seis divisões internas (raias) e uma lâmpada na parte superior. Em cada divisão interna havia um orifício na parte inferior adaptado com uma seringa de 20 mL para direcionar as abelhas até a entrada da divisão. Uma fita métrica foi fixada entre as divisões da base até a parte superior para auxiliar marcação da distância percorrida.

As operárias (n = 6) foram expostas aos produtos fitossanitários nas dosagens recomendadas por via tópica e após 15, 30, 60 minutos e 24 horas da exposição, foram liberadas, uma em cada raia (repetição). Foi observada a movimentação das abelhas e determinado o tempo necessário para que elas percorressem os 50 cm, dividindo a extensão em 5 estágios: perímetro (1): onde as abelhas percorriam 0-10 cm; perímetro (2): quando as abelhas percorriam 11-20 cm; perímetro (3): onde as abelhas percorriam 21-30 cm; perímetro (4): as abelhas percorriam 31-40 cm; perímetro (5): as abelhas percorriam 41-50 cm. O tempo de observação foi de cinco minutos e foi avaliado se houve retorno às fases anteriores.

Os tratamentos com azadiractina, glifosato, clorpirifós, ciflumetofem, difenoconazol foram contrastados com grupos controle, onde não houve exposição aos produtos fitossanitários.

Efeitos subletais da exposição por ingestão na fisiologia das abelhas

As abelhas foram expostas por ingestão aos agrotóxicos utilizando a dose comercial, exceto o glifosato que usou uma dose duas vezes menos que a recomendado pelo fabricante (500 ml/100L) e para o clorpirifós foi utilizada uma dose 20 vezes menos (5ml /100ml). As doses foram diluídas em uma solução de sacarose a 50% e fornecidas em microtubos em gaiolas plásticas (100 mm de diâmetro x 100 mm de altura) com duas perfurações laterais para encaixe dos microtubos, sendo um contendo água e outro com uma solução com sacarose. A gaiola foi fechada com placas de Petri na parte superior e inferior (Figura 1) após três horas de jejum. Após um dia, três dias e seis dias de exposição ao alimento contaminado, as abelhas nos seus diferentes tempos de exposição e tratamento foram congeladas com nitrogênio líquido e maceradas. Logo em seguida, foram adicionados 100 microlitros de Tampão Salino-Fosfato para cada indivíduo de *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis*. As amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm durante três minutos a 2 °C. Após a centrifugação das amostras foram obtidas duas fases e o sobrenadante foi removido e centrifugado novamente. Posteriormente, a proteína foi quantificada no equipamento Eppendorf BioPhotometer® D30, 230 V/50–60 Hz por meio da leitura em um comprimento de onda de 280 nm. A quantificação da proteína em cada tratamento e nos tempos de exposição foi repetida três vezes (FELICOLI et al., 2004).

Análises estatísticas

Os dados foram analisados usando o software R® (2016). Para os dados do teste de locomoção foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. As concentrações totais de proteína das abelhas de alimentos contaminados e não contaminados foram comparados.

RESULTADOS

Efeitos subletais da exposição via aplicação tópica sobre o comportamento

Difenoconazol e Azadiractina foram os produtos que apresentaram maior toxicidade sobre *S. xanthotricha* independente do tempo de exposição, apresentando velocidade média de 0,55; 0,70; 0,50; 0,50 cm/s para o difenoconazol e 0,40; 0,55; 0,45; 0,45 cm/s para a azadiractina nos tempos 15, 30, 60 minutos e 24 horas, respectivamente, divergindo da testemunha que apresentou velocidade média de 2,8 (cm/s).

As abelhas apresentaram uma redução na velocidade média de 1,40; 0,70; 0,80; 0,55 cm/s aos 30 minutos e 1,23; 0,50; 1,00; 0,45 cm/s aos 60 minutos expostas ao ciflumetofem, difenoconazol, glifosato e azadiractina, respectivamente. No entanto, o clorpirifós divergiu dos demais produtos e apresentou uma alta na velocidade média de 3,80 e 3,50 quando comparados com a testemunha que apresentou 2,80 cm/s. Às 24 horas de exposição ciflumetofem, difenoconazol e a azadiractina tiveram uma redução da velocidade média apresentando (1,4; 0,50; 0.45 cm/s), respectivamente (Figura 1).

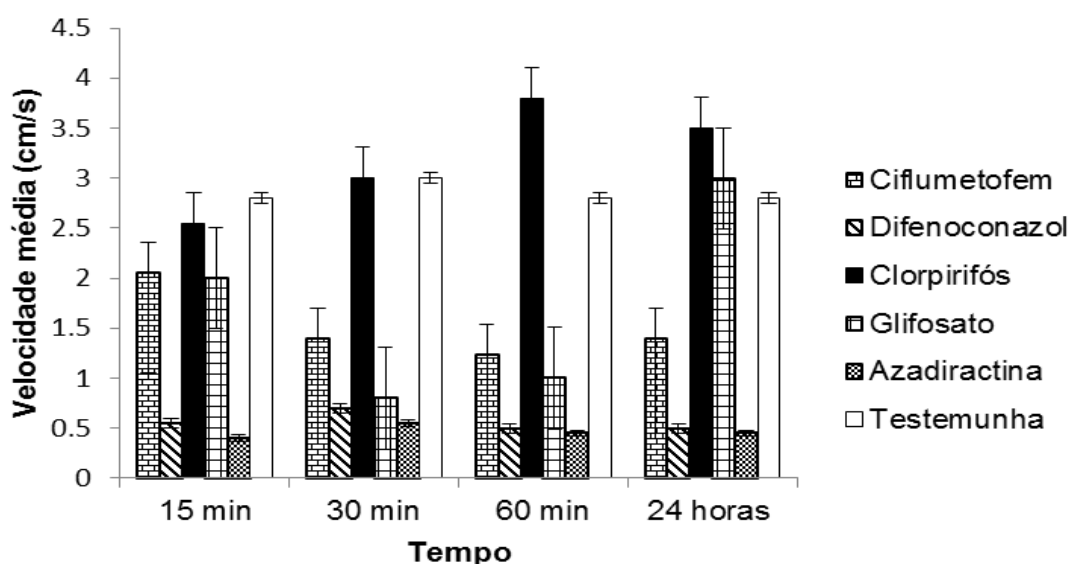


Figura 1. Velocidade média de operárias de *Scaptotrigona xanthotricha* após a exposição tópica aos produtos fitossanitários ciflumetofem, difenoconazol, clorpirifós, glifosato, azadiractina e água (testemunha).

Todos os produtos se mostraram tóxicos para *N. testaceicornis* interferindo na velocidade da abelha independente do tempo de exposição, quando comparados com a testemunha. O ciflumetofem e o glifosato apresentaram redução em todos os tempos de exposição, onde a velocidade média foi reduzida quando comparada com os demais tratamentos. Aos 15 minutos de exposição, todos os produtos interferiram na velocidade média dos indivíduos, sendo o ciflumetofem o que apresentou a menor velocidade média. Aos 30 minutos, os produtos ciflumetofem, clorpirifós e o glifosato se mostraram mais tóxicos, apresentando uma velocidade média de 0,44; 0,30 e 0,70 (cm/s) respectivamente, divergindo da testemunha que apresentou 2,86 (cm/s) (Figura 2).

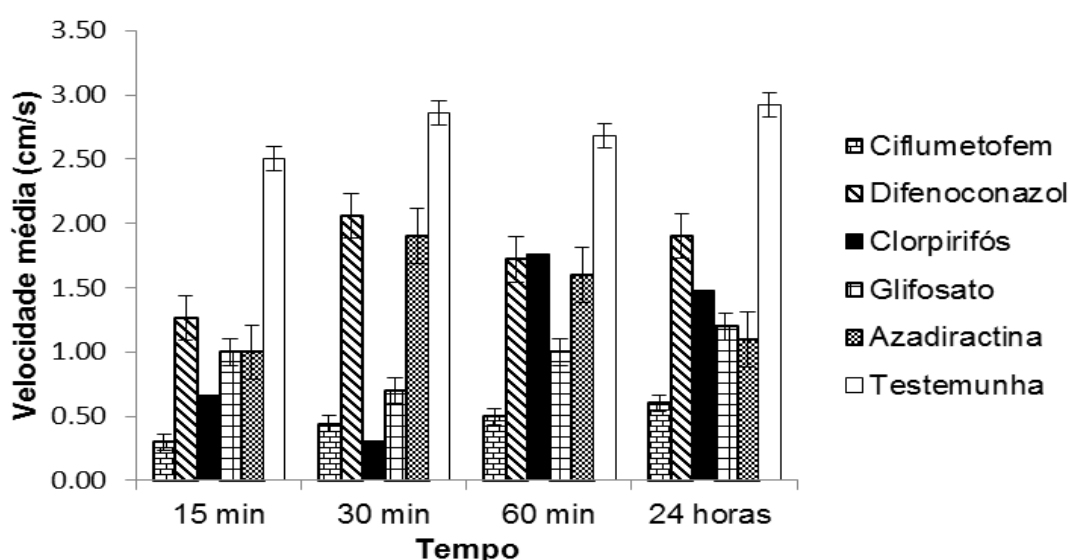


Figura 2. Velocidade média de operárias de *Nannotrigona testaceicornis* após a exposição tópica aos produtos fitossanitários ciflumetofem, difenoconazol, clorpirifós, glifosato, azadiractina e água (testemunha).

Quantidade de Proteínas totais após exposição por ingestão

Foi analisada a proteína total por meio das médias obtidas nos indivíduos de *S. xanthotricha* expostos a dieta contendo solução de sacarose com os produtos fitossanitários ciflumetofem, difenoconazol, clorpirifós, glifosato, azadiractina.

No primeiro e terceiro dia após a exposição, o clorpirifós provocou a maior toxicidade promovendo alterações na proteína total dentre os produtos testados,

com níveis variando de 6,3 a 20,59 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$), respectivamente. Contudo, o mesmo produto não divergiu do tratamento controle no sexto dia após a exposição.

Por outro lado, o ciflumetofem apresentou maior toxicidade no sexto dia, quando foi observada uma redução do nível proteico médio para 1,24 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$), quando comparados com os demais produtos (difenoconazol = 9,72; clorpirifós = 14,33; azadiractina = 15,80; glifosato = 9,62; e testemunha = 15,16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$).

A azadiractina promoveu uma redução da proteína total em todas as avaliações 9,43, 9,39 e 9,62 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) para um, três e seis dias, respectivamente. Este produto reduziu a proteína total no primeiro dia em relação a testemunha e se manteve constante nas demais avaliações. Similarmente a azadiractina o difenoconazol mostraram-se tóxicos aos três e seis dias após a exposição, apresentando 9,60 e 9,72 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) respectivamente (Figura 3).

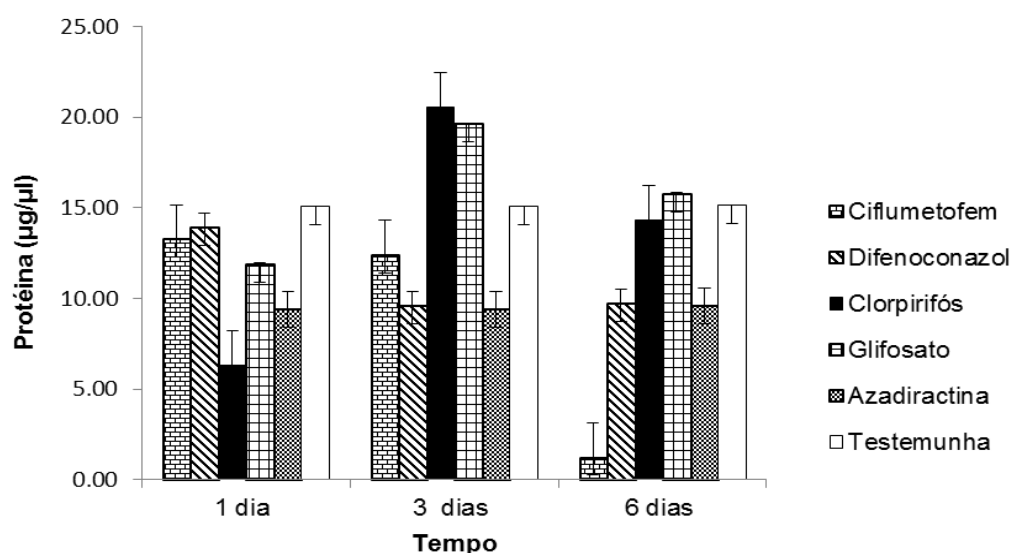


Figura 3. Concentração de proteína total ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) em operárias de *S. xanthotricha* após um, três e seis dias da alimentação contaminada com os produtos fitossanitários ciflumetofem, difenoconazol, clorpirifós, glifosato, azadiractina.

Para os indivíduos de *N. testaceicornis* foi observado que o efeito do ciflumetofem foi similar a da testemunha no primeiro dia após a exposição. Contudo o mesmo mostrou maior toxicidade no terceiro e no sexto dia após a exposição, apresentando uma redução no valor médio da proteína total de 7,40 para 6,29 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, respectivamente.

No sexto dia todos os produtos testados se mostraram tóxicos, divergindo da testemunha que apresentou 14,53 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de proteína total. Os produtos ciflumetofem, difenoconazol, clorpirifós, glifosato, azadiractina apresentaram redução do nível proteico obtendo médias de 6,29, 6,41, 7,14, 7,54 e 7,88 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, respectivamente (Figura 4).

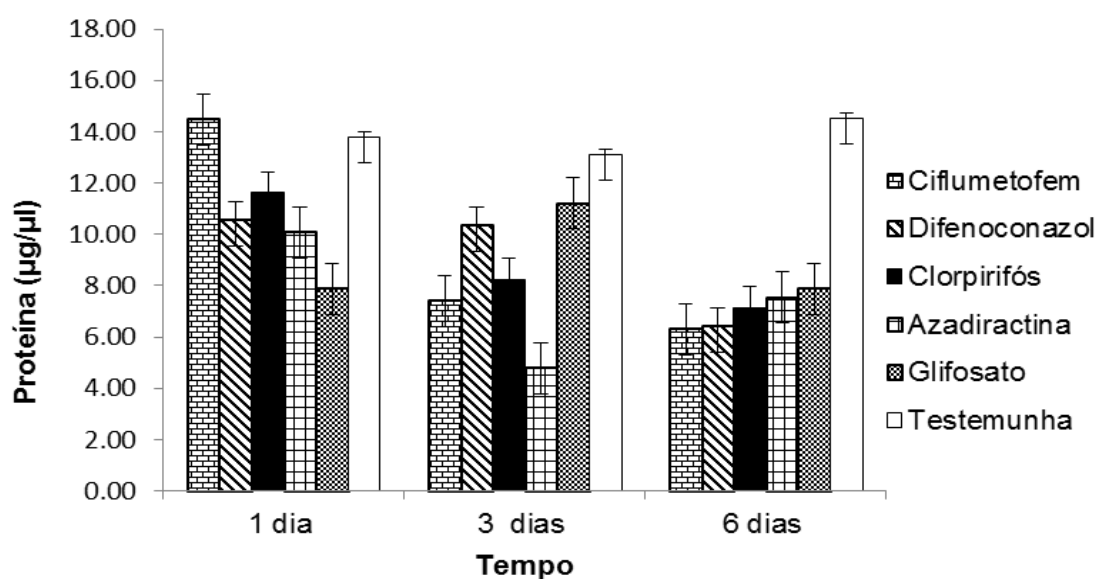


Figura 4. Concentração de proteína total ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) em operárias de *Nannotrigona testaceicornis* após um, três e seis dias da alimentação contaminada com os produtos fitossanitários ciflumetofem, difenoconazol, clorpirifós, glifosato, azadiractina.

DISCUSSÃO

No primeiro e terceiro dia após a exposição, o clorpirifós foi o produto que provocou maior toxicidade sobre *S. xanthotricha* promovendo alterações na proteína total dentre os produtos testados, com níveis variando de 6,3 para 20,59 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$), respectivamente. Estas alterações sobre *N. testaceicornis* só foram detectadas no sexto dia. Esses resultados corroboraram com observações de Roat et al. (2014) que avaliaram o efeito de doses subletais sobre *A. mellífera*, que quando expostas ao fipronil, apresentaram alterações em 25 proteínas cerebrais. Os mesmos autores

ainda sugerem uma maior vulnerabilidade a patógenos, além de desdobramento proteico, degeneração cerebral, apoptose, isquemia, deficiência visual, alterações nas sinapses, degeneração cerebral, perda de memória e dificuldades de aprendizagem. Thompson (2003) sugeriu que efeitos comportamentais foram relatados em vários estudos, contudo mais trabalhos devem ser realizados com o intuito de detectar alterações, devido a carência de estudos que relatem tais impactos, uma vez que estes podem estar relacionados com sobrevivência ao longo prazo e desenvolvimento da colônia.

A azadiractina e o clorpirifós promoveram redução da proteína total de ambas as espécies no sexto dia. Wu et al. (2017) avaliaram o inseticida, imidaclopride que promoveu disfunção celular de *A. mellifera* e foi capaz de interferir a nível muscular e ribossômico, portanto, afetando a função de síntese proteica. Diante disso, pode-se sugerir tais alterações ocorridas quanto os níveis de proteína total. Outro estudo mostrou que *A. mellifera* quando submetidas a dieta contaminada com clotiadinina apresentaram redução do glicogênio, lipídios e proteína quando correlacionados a concentrações crescentes do inseticida (MOGREN; LUNDGREN, 2016).

O glifosato mesmo utilizando uma dose duas vezes menor que a dose comercial se mostrou tóxico provocando um aumento na proteína total sobre *S. xanthotricha* aos três dias de exposição, similar aos inseticidas clorpirifós, uma vez que este efeito foi contrário sobre *N. testaceicornis* que promoveu uma redução da proteína total, apesar de autores relatarem baixa toxicidade para animais (RUIZ-TOLEDO; SÁNCHEZ-GUILLÉN, 2014). Outros autores sugerem que o herbicida apresente toxicidade a nível de efeitos subletais no comportamento de abelhas sendo necessária mais pesquisas para compreender o real efeito dos herbicidas sobre as abelhas (HERBERT et al., 2014; THOMPSON et al., 2014; BALBUENA et al., 2015).

O ciflumetofem apresentou maior toxicidade sobre *S. xanthotricha* no sexto dia, apresentando uma redução do nível proteico médio, e para *N. testaceicornis* o mesmo mostrou maior toxicidade no terceiro e no sexto dia. Estes resultados divergem de Hayashi et al. (2013) que relatam a inexistência do efeito tóxico sobre *A. mellifera* por via de contato e de ingestão, assim como estudos realizados pela EFSA (2012) que relata a baixa toxicidade do ciflumetofem sobre abelhas, por ser um acaricida de contato. Contudo, efeitos subletais são menos investigados devido à

dificuldade de percepção, principalmente por serem feitos de longo prazo. Autores como FREITAS e PINHEIRO (2010) sugerem que um banco de dados deve ser criado para facilitar a observação e interpretação de tais distúrbios.

O difenoconazol apresentou maior toxicidade sobre as operárias *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis* a partir do terceiro dia, reduzindo os níveis proteicos. Desta forma, a observação de efeitos subletais se torna um fator importante para comprovar os reais efeitos dos fungicidas, corroborando com o trabalho de Ladurner et al. (2005) que relatam a toxicidade sobre abelhas *Osmia lignaria* e *A. mellifera* quando expostas ao fungicida propiconazol, do grupo dos triazóis que apresentou toxicidade oral aguda. Por outro lado, Kinasih et al. (2017) relatam que o difenoconazol não apresentou efeito tóxico às operárias de *Trigona (Tetragonula) laeviceps* por via tópica.

A azadiractina e o difenoconazol sobre *S. xanthotricha* por via de aplicação tópica promoveu uma redução na velocidade média das abelhas independente do tempo de exposição, corroborando assim com Lambin et al. (2001) que avaliaram a atividade motora de *A. mellifera*, e Silva et al. (2016) sobre *Scaptotrigona postica*, ambas espécies expostas por aplicação tópica ao imidaclopride.

O ciflumetofem promoveu a redução da velocidade média sobre *N. testaceicornis*, independente do tempo de exposição apresentando uma maior vulnerabilidade aos 15 minutos e para *S. xanthotricha* a redução da velocidade média começou após 30 minutos de exposição, possivelmente, devido à capacidade de se transformar em outras substâncias químicas, além do seu poder residual como relatado por Hayashi et al. (2013). Lima et al. (2016) também relatam que o ciflumetofem tem a capacidade de metabolização, se transformando em três metabólitos distintos capazes de serem mais ou menos tóxicos que o próprio ingrediente ativo dependendo do ambiente.

O glifosato também se mostrou tóxico a partir dos 30 minutos após a exposição via tópica, promovendo redução da velocidade média das operárias de *S. xanthotricha*, assim como para *N. testaceicornis*, contudo esta redução ocorre independente do tempo de exposição, Herbert et al. (2014) observaram que abelhas *A. mellifera* quando expostas ao glifosato por via oral, apresentaram deficit cognitivos, assim como, Balbuena et al. (2015), que relataram deficit cognitivos e alterações na capacidade de voo quando submetidas a doses elevadas de glifosato sobre *A. mellifera* por meio da exposição via oral.

O clorpirifós sobre *S. xanthotricha* foi o produto que afetou de forma contrária aos demais, nos tempos de 30 e 60 minutos promoveu uma maior velocidade média, divergindo de *N. testaceicornis* que apresentou uma redução da velocidade média independente do tempo de exposição. Tal fato estar relacionada com o efeito neurotóxico, uma vez que este produto, por ser um organofosforado, atua na inibição da acetilcolinesterase, provocando uma hiperexcitação do sistema nervoso (RIEDL et al., 2006; Silva et al., 2015), corroborando com o trabalho de Schricker e Stephen (1970) que ao avaliar a toxicidade de parathion sobre *A. mellifera* mostraram que o organofosforado promoveu uma maior velocidade no voo quando submetidas por via ingestão. Divergem porém com o trabalho de Williamson et al. (2013), onde promoveu uma menor atividade das abelhas *A. mellifera* quando submetidas a exposição tópica ao clorpirifós.

CONCLUSÃO

Todos os produtos testados apresentaram toxicidade sobre as operárias de *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis*, sendo que clorpirifós e azadiractina provocaram os maiores distúrbios comportamentais dentre os produtos testados.

O glifosato apresentou efeitos subletais sobre as operárias, evidenciando a sua vulnerabilidade a este produto, uma vez que este apresentou resultados similares aos dos inseticidas testados.

A quantificação de proteína total é uma técnica que pode ser utilizada para comprovar distúrbios fisiológicos provocados pelos agrotóxicos, uma vez que muitos produtos tem seu efeito real mascarado devido à ausência de letalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARENA, M.; SGOLASTRA, F.A. meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v.23, n.3, p.324-334, 2014.

BALBUENA, M.S.; TISON, L.; HAHN, M.L.; GREGGERS, U.; MENZEL, R.; FARINA, W.M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, v.218, n.17, p.2799-2805, 2015.

BERNAL, J.; GARRIDO-BAILON, E.; DEL NOZAL, M.J.; GONZALEZ-PORTO, A.V.; MARTIN-HERNANDEZ, R.; DIEGO, J.C.; HIGES, M. Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. **Journal of Economic Entomology**, v.103, n.6, p.1964-1971, 2010.

BLACQUIÈRE, T.; SMAGGHE, G.; VAN GESTEL, C.A.M.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v.21, n.4, p. 973–992, 2012.

BUDGE, G.E.; GARTHWAITE, D.; CROWE, A.; BOATMAN, N.D.; DELAPLANE, K.S.; BROWN, M.A.; THYGESEN, H.H.; PIETRAVALLE, S. Evidence for pollinator cost and farming benefits of neonicotinoid seed coatings on oilseed rape, **Scientific reports**, v.5, n.12574, p.1-12, 2015,

CHAUZAT, M.P.; FAUCON, J.P.; MARTEL, A.C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N.; AUBERT, M. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. **Journal of Economic Entomology**, v.99, p.253-262, 2006.

COSTA, E.M.; ARAUJO, E.L.; MAIA, A.V.P.; SILVA, F.E.L.; BEZERRA, C.E.S.; SILVA, J.G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie**, v.45, p.34-44, 2014.

DA SILVA, M.B.; NOCELLI, R.C.F.; SOARES, H.M.; MALASPINA, O. Efeitos do imidacloprido sobre o comportamento das abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille,

1807 (Hymenoptera, Apidae) **Ciência, Tecnologia & ambiente**. v.3, n.1, p.21-28, 2016.

DEL SARTO, M.C.L.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, R.N.C.; CAMPOS, L.A.O. Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, v.45, n.5, p.626–36, 2014.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.52, p. 81-106, 2007.

DIVELY, G.P.; KAMEL, A. Insecticide residues in pollen and nectar of a cucurbit crop and their potential exposure to pollinators. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.60, n.8, p.4449-4456, 2012.

EFSA, European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance cyflumetofen. **EFSA Journal**, v.10, n.1, p.2504, 2012.

FAIRBROTHER, A.; PURDY, J.; ANDERSON, T.; FELL, R. Riscos dos inseticidas neonicotinóides às abelhas. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 33, n.4, p.719-731, 2014.

FERREIRA, R.A.C.; ZACARIN, E.C.M.S.; MALASPINA, O.; BUENO, O.C.; TOMOTAKE, M.E.M.; PEREIRA, A.M. Cellular responses in the Malpighian tubules of *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) exposed to low doses of fipronil and boric acid. **Micron**, v.46, p.57-65, 2013.

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.

GALLAI, N.; SALLES, J.M.; SATTELE, J.; VAISSIERE, B.E. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, v.68, p.810-821, 2009.

GARIBALDI, L.A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; KREMEN, C.; MORALES, J.M.; BOMMARCO, R.; CUNNINGHAM, S.A.; CARVALHEIRO, L.G.; CHACOFF, N.P.; DUDENHOEFFER, J.H.; GREENLEAF, S.S.; HOLZSCHUH, A.; ISAACS, R.; KREWENKA, K.; MANDELIK, Y.; MAYFIELD, M.M.; MORANDIN, L.O.; POTTS, S.G.; RICKETTS, T.H.; SZENTGYÖRGYI, H.; VIANA, B.F.; WESTPHAL, C.; GODFRAY, H.C.J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, L.M.; HAILS, R.S.; PETROKOFISKY, G.; POTTS, S.G.; RAINE, N.E.; VANBERGEN, A.J.; MCLEAN, A.R. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators, In **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.281, n.1786, 2015.

GODFRAY, H.C.J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, L.M.; HAILS, R.S.; PETROKOFISKY, G.; POTTS, S.G.; RAINE, N.E.; VANBERGEN, A.J.; MCLEAN, A.R. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. In **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n.1786, 2014.

GOULSON, D.; NICHOLIS, E.; BOTIAS, C.; ROTHERAY, E. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v.347, n.6229, p.1255-1257, 2015.

GOULSON, D.; HUGHES, W.O.H. Mitigating the anthropogenic spread of bee parasites to protect wild pollinators. **Biological Conservation**, v.191, p10-19, 2015.

GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; STARK, J.D.; DESNEUX, N. Pesticide induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs, **Annual Review Entomology**, v.61, p.1-20, 2016.

HANULA, J. L.; ULYSHEN, M. D.; HORN, S. Conserving Pollinators in North American Forests: A Review, **Natural Areas Journal**, v.36, n.4, p.427-439, 2016.

HAYASHI, N.; SASAMA, Y.; TAKAHASHI, N.; IKEMI, N. Cyflumetofen, a novel acaricide—its mode of action and selectivity. **Pest management science**, v.69, n.9, p.1080-1084, 2013.

HERBERT, L.H.; VÁZQUEZ, D.E.; ARENAS, A.; FARINA, W.M. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **Journal of Experimental Biology**, v.217, p. 3417-3464, 2014.

INGRAM, E.M.; AUGUSTIN, J.; ELLIS, M.D.; SIEGFRIED, B.D. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors, **Chemosphere**, v.135, p.272-277, 2015.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A. T.; MAIA, U. M.; BLOCHTEIN, B.; CARVALHO, C.A.L.; CARVALHO-ZILSE, G. A.; FREITAS, M.B.; MENEZES, C.; RIBEIRO, M.F.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping, **PloS one**, v.10, n.3, p.121-157, 2015.

JOHNSON, R.M. Honey bee toxicology. **Annual Review Entomology**, v.60, p.415-434, 2015.

KASIOTIS, K.M.; ANAGNOSTOPOULOS, C.; ANASTASIADOU, P.; MACHERA, K. Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. **Science of the Total Environment**, v.485, p.633-642, 2014.

KINASIH, I.; NUGRAHA, R.S.; PUTRA, R.E.; PERMANA, A.D.; ROSMIATI, M. Toksisitas beberapa jenis fungisida komersial pada serangga penyerbuk, *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith. **Journal Entomology Indonesia**, v.14, n.1, p.29, 2017.

KLEIN, A.M.; VAISSIÈRE, B.E.; CANE, J.H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in

changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.274, n.1608, p.303-313, 2007.

LADURNER, E; BOSCH, J.; KEMP, W. P.; MAINI, S. Assessing delayed and acute toxicity of five formulated fungicides to *Osmia lignaria* Say and *Apis mellifera*. **Apidologie**, v.36, n.3, p.449-460, 2005.

LAMBIN, M.; ARMENGAUD, C.; RAYMOND, S.; GAUTHIER, M. Imidacloprid Induced Facilitation of the Proboscis Extension Reflex Habituation in the Honeybee. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**. v.48, p.129-134, 2001.

LI, H.; TAN, J.; SONG, X.; WU, F.; TANG, M.; HUA, Q.; ZHENG, H.; HU, F. Sublethal doses of neonicotinoid imidacloprid can interact with honey bee chemosensory protein 1 (CSP1) and inhibit its function. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.486, n.2, p.391-397, 2017.

LIMA, M.A.P.; MARTINS, G.F.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, R.N.C. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A**, v.202, n.9-10, p.733-747, 2016.

LIMA-VERDE, L.W.; LOIOLA, M.I.; FREITAS, B.M. Angiosperm flora used by meliponine guilds (Apidae, Meliponina) occurring at rainforest edges in the state of Ceará, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.86, n.3, p.1395-1410, 2014.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Agrofit: sistema de Agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 12 ago. 2018.

MEDRZYCKI, P.; MONTANARI, R.; BORTOLOTTI, L.; SABATINI, A.G.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. **Bulletin of Insectology**, v.56, n.1, p.59-62, 2003.

MOGREN, C.L.; LUNDGREN, J.G. Neonicotinoid-contaminated pollinator strips adjacent to cropland reduce honey bee nutritional status. **Scientific Reports**, v.6, p.29608, 2016.

MOREIRA, D.R.; SINÓPOLIS GIGLIOLLI, A.A.; FALCO, J.R.P.; JULIO, A.H. F.;VOLNISTEM, E.A.; CHAGAS, F.D.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M.C.C. Toxicity and effects of the neonicotinoid thiamethoxam on *Scaptotrigona bipunctata* lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae). **Environmental toxicology**, v.33, n.4, p.463-475, 2018.

NAKASU, E.Y.; WILLIAMSON, S.M.; EDWARDS, M.G.; FITCHES, E.C.; GATEHOUSE, J.A.; WRIGHT, G.A.; GATEHOUSE, A.M. Novel biopesticide based on a spider venom peptide shows no adverse effects on honeybees. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v.281, n.1787, p.20140619, 2014.

POTTS, S.G.; BIESMEIJER, J.C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W.E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers, **Trends in ecology & evolution**, v.25, n.6, p.345-353, 2010.

R Development Core Team R: **A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna 2016. Disponível em:<<http://www.R-project.org/>>. Acesso: 05 fev. 2018.

RASMUSSEN, C.; NIEH, J.; BIESMEIJER, J.C. Foraging biology of neglected bee pollinators. **Psyche: A Journal of Entomology**, 2010.

RIEDL, H.; JOHANSEN, E.; BREWER, L. J.; BARBOUR, J. **How to reduce bee poisoning from pesticides**. Oregon State University Extension Service, 2006.

ROAT, T.C.; DOS SANTOS-PINTO, J.R.A.; DOS SANTOS, L.D.; SANTOS, K.S.; MALASPINA, O.; PALMA, M.S. Modification of the brain proteome of Africanized honeybees (*Apis mellifera*) exposed to a sub-lethal doses of the insecticide fipronil. **Ecotoxicology**, v.23, n.9, p.1659-1670, 2014.

RORTAIS, A.; ARNOLD, G.; HALM, M.P.; TOUFFET-BRIENS, F. Modes of honeybees' exposure to systemic insecticides: Estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie**, v.36, p.71-83, 2005.

RUIZ-TOLEDO, J.; SÁNCHEZ-GUILLÉN, D, Efecto de la concentración de glifosato presente en cuerpos de agua cercanos a campos de soya transgénica sobre la abeja *Apis mellifera* y la abeja sin aguijón *Tetragonisca angustula*, **Acta zoológica mexicana**, v.30, n.2, p.408-413, 2014.

RUNDLÖF, M.; ANDERSSON, G.K.; BOMMARCO, R.; FRIES, I.; HEDERSTRÖM, V.; HERBERTSSON, L.; JONSSON, O.; KLATT, B.K.; PEDERSEN, T.R.; YOURSTONE, J.; SMITH, H.G. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. **Nature**, v.521, n.7550, p.77, 2015.

SCHRICKER, B.; STEPHEN, W.P. The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behaviour. I. Oral administration and the communication dance. **Journal of Apicultural Research**, v.9, n.3, p.141-153, 1970.

SILVA, I.P.; OLIVEIRA, F.A.S.; PEDROZA, H. P.; GADELHA, I.C.N.; MELO, M.M.; SOTO-BLANCO, B. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v.46, n.6, p.703-715, 2015.

STAVELEY, J.P.; LAW, S.A.; FAIRBROTHER, A.; MENZIE, C.A. A causal analysis of observed declines in managed honey bees (*Apis mellifera*). **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v.20, n.2, p.566-591, 2014.

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.

THOMPSON, H. M.; LEVINE, S. L.; DOERING, J.; NORMAN, S.; MANSON, P.; SUTTON, P.; VON MÉREY, G. Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an

example. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v.10, n.3, p.463-470, 2014.

TOMÉ, H.V.V.; BARBOSA, W. F.; CORRÊA, A.S.; GONTIJO, L.M.; MARTINS, G.F.; GUEDES, R.N.C. Reduced-risk insecticides in Neotropical stingless bee species: impact on survival and activity. **Annals of Applied Biology**. v.167, n.2, p.186-196, 2015.

TOMÉ, H.V.V.; BARBOSA, W.F.; MARTINS, G.F.; GUEDES, R.N.C. Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide. **Chemosphere**, v.124, p.103-109, 2015.

TOMÉ, H.V.V.; MARTINS, G.F.; LIMA, M.A.P.; CAMPOS, L.A.O.; GUEDES, R.N.C. Imidacloprid-Induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **PLoS One**, v.7, 2012.

VAN DER SLUIJS, J.P.; SIMON-DELISO, N.; GOULSON, D.; MAXIM, L.; BONMATIN, J.M.; BELZUNCES, L.P. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v.5, p.293-305, 2013.

WILLIAMSON, S.M; MOFFAT, C; GOMERSALL, M.A.E; SARANZEWA, N; CONNOLLY, C.N.; WRIGHT, G.A. Exposure to acetylcholinesterase inhibitors alters the physiology and motor function of honeybees. **Front. Physio**. v.4, n.13, 2013.

WU, J.Y.; ANELLI, C.M.; SHEPPARD, W.S. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity, **PloS One**, v.6, n.2, 2011.

WU, Y.Y.; LUO, Q.H.; HOU, C.S.; WANG, Q.; DAI, P.L.; GAO, J.; DIAO, Q.Y. Sublethal effects of imidacloprid on targeting muscle and ribosomal protein related genes in the honey bee *Apis mellifera* L. **Scientific Reports**, v.7, n.1, p.15943, 2017.

WU, X.B.; ZHANG, F.; GUAN, C.; PAN, Q.Z.; HOU, L.B.; YAN, W.Y.; ZENG, Z. A new method of royal jelly harvesting without grafting larvae. **Entomological news**, v.124, n.4, p.277-281, 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta informações relevantes sobre o efeito de substâncias usadas no controle fitossanitário de insetos pragas, em operárias de *S. xanthotricha* e *N. testaceicornis*, espécies de abelhas sem ferrão (Meliponini) de interesse sócio-econômico-ambiental.

Dentre os produtos testados, o clorpirifós apresentou maior letalidade, independente do meio de exposição. Contudo os produtos ciflumetofem, difenoconazol, glifosato, azadiractina mesmo quando estes apresentaram baixa letalidade, efeitos subletais também foram detectados nos testes, o que pode comprometer o comportamento natural das abelhas, podendo vir a interferir no forrageamento destas.

Portanto, esse estudo contribuiu para o conhecimento sobre os efeitos desses princípios ativos nessas duas espécies de abelhas sem ferrão, de forma a estabelecer medidas que minimizem os efeitos negativos dos produtos fitossanitários, tais como, evitar aplicações durante o período de floração, fechamento das colônias à noite nos dias anteriores às aplicações, aplicações dirigidas, redução das aplicações, uso de produtos seletivos em substituição às substâncias de maior toxicidade para as abelhas.

Dessa forma, RECOMENDA-SE ESSE ESTUDO também enfatizar a necessidade de testes preliminares utilizando as abelhas sem ferrão antes de registrar novos produtos fitossanitários, uma vez que, geralmente, esses testes são realizados apenas com abelhas do gênero *Apis*, e comumente são realizados teste somente de mortalidade, não levando em consideração os efeitos que esses produtos podem causar sobre o comportamento das abelhas.