

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**EFEITOS DO HERBICIDA GLIFOSATO NO  
COMPORTAMENTO DA ESPÉCIE DE ABELHA  
*Tetragonisca angustula* (LATREILLE, 1811)**

**ÉRIKA OLIVEIRA DA SILVA FARIAS**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
NOVEMBRO - 2022**

**EFEITOS DO HERBICIDA GLIFOSATO NO  
COMPORTAMENTO DA ESPÉCIE DE ABELHA  
*Tetragonisca angustula* (LATREILLE, 1811)**

**ÉRIKA OLIVEIRA DA SILVA FARIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Colegiado de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Coorientador: Jefferson Alves dos Santos

**CRUZ DAS ALMAS - BA**

**NOVEMBRO - 2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TRABALHO DE**  
**CONCLUSÃO DE CURSO DE ÉRIKA OLIVEIRA DA SILVA FARIAS**

Data de Aprovação: 24/11/2022



Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- UFRB  
(Orientador)



Dr<sup>a</sup>. Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- UFRB



MSc. Maiara Janinie Machado Caldas  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia- UFRB

**CRUZ DAS ALMAS - BA**

**NOVEMBRO - 2022**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>11</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
3.1 Objetivo Geral .....	12
3.2 Objetivos Específicos .....	12
<b>4 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>13</b>
4.2 Abelha sem ferrão: <i>Tetragonisca angustula</i> .....	14
4.3 Glifosato e sua toxicidade em abelhas .....	15
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>17</b>
5.1 Local do experimento .....	17
5.2 Obtenção das abelhas para a realização do bioensaio .....	17
5.3 Preparativos para o experimento e delineamento experimental .....	18
5.4 Instalação do experimento e avaliações .....	19
5.5 Análise e interpretação de dados.....	21
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>27</b>

## RESUMO

### EFEITOS DO HERBICIDA GLIFOSATO NO COMPORTAMENTO DA ESPÉCIE DE ABELHA *Tetragonisca angustula* (LATREILLE, 1811)

As abelhas sociais sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) são importantes polinizadoras da flora nativa, bem como de espécies de interesse econômico. No entanto, alguns fatores vêm afetando a sobrevivência desses insetos, como o uso indiscriminado de agrotóxicos. O objetivo do estudo foi avaliar a toxicidade oral do herbicida glifosato em *Tetragonisca angustula*. Para a realização desta pesquisa foi seguido o protocolo número 213 da *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD). Foram aplicados três tratamentos, com as concentrações: 0 µl/mL (T1); 19,75 µl/mL (T2); 39,5 µl/mL (T3) e 79 µl/mL (T4). A mortalidade e subletalidade das abelhas foi avaliada a uma, seis, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a exposição com o estressor, sendo observadas as variações comportamentais durante as avaliações. Os dados foram submetidos a análise estatística no software R Core Team, sendo geradas curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier que comparadas pelo teste de Logrank, análise de dose-resposta para estimar a concentração letal mediana (CL<sub>50</sub>) do herbicida. As taxas de mortalidade das abelhas expostas ao glifosato foram: 75% (T4); 50% (T3); 13,8% (T2) e 0% (T1). O teste de Logrank apresentou significância entre as curvas de sobrevivência ( $p < 0,01$ ), indicando que houve diferença estatística entre as concentrações testadas. A CL<sub>50</sub> do glifosato ( $42,57 \pm 4,40$  µl/mL) foi semelhante a maior dosagem de campo recomendada (39,5 µl/mL). As abelhas apresentaram alterações no comportamento, a partir da primeira hora de avaliação. Os resultados desta pesquisa certificam que o glifosato em formulação comercial pode comprometer a sobrevivência de indivíduos de *T. angustula* nas dosagens recomendadas pelo fabricante, bem como promover alterações comportamentais, indicando possíveis efeitos subletais que ainda requerem investigações mais detalhadas.

**Palavras-chave:** Jataí, toxicologia, agrotóxico, saúde das abelhas.

## ABSTRACT

### EFFECTS OF THE HERBICIDE GLYPHOSATE ON THE BEHAVIOR OF THE STINGLESS BEE *Tetragonisca angustula* (LATREILLE, 1811)

The stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) are important pollinators of native flora, as well as species of economic interest. However, some factors have been affecting the survival of these insects, such as the indiscriminate use of pesticides. The objective of the study was to evaluate the oral toxicity of the herbicide glyphosate in *Tetragonisca angustula*. To carry out this research, protocol number 213 of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) was followed. Three treatments were applied, with concentrations: 0 µl/mL (T1); 19.75 µl/mL (T2); 39.5 µl/mL (T3) and 79 µl/mL (T4). The mortality and sub-lethality of the bees was evaluated at one, six, 12, 24, 48, 72 and 96 hours after exposure to the stressor, observing behavioral variations during the evaluations. The data were submitted to statistical analysis in the R Core Team software, generating Kaplan-Meier survival curves that were compared using the Logrank test, dose-response analysis to estimate the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of the herbicide. The mortality rates of bees exposed to glyphosate were: 75% (T4); 50% (T3); 13.8% (T2) and 0% (T1). The Logrank test showed significance between the survival curves ( $p < 0.01$ ), indicating that there was a statistical difference between the tested concentrations. The glyphosate LC<sub>50</sub> ( $42.57 \pm 4.40$  µl/mL) was similar to the highest recommended field dosage (39.5 µl/mL). The bees showed changes in behavior from the first hour of evaluation. The results of this research certify that glyphosate in a commercial formulation can compromise the survival of *T. angustula* individuals at the dosages recommended by the manufacturer, as well as promote behavioral changes, indicating possible sublethal effects that still require more detailed investigations.

**Keywords:** Jataí, toxicology, pesticide, bee health.

## 1 INTRODUÇÃO

As abelhas sociais sem ferrão (ASF) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) são conhecidas por apresentarem ferrão atrofiado, desenvolvendo assim outros mecanismos para a sua defesa, na proteção da sua colônia (SHACKLETON *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Apresentam hábito social, ou seja, convivem em colônias que dispõem de uma subdivisão de trabalho, conforme as suas castas (CONAMA, 2020; LUNA-LUCENA *et al.*, 2019).

De modo geral, o grupo das abelhas sem ferrão é constituído pelas tribos Meliponini e Apini, sendo na tribo Meliponini que está a espécie *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811), conhecida popularmente por jataí (CAMARGO; PEDRO, 2013; MOURE, 2012). Trata-se de uma espécie de fácil manejo, com hábitos de nidificação em diferentes lugares, desde cavidades em árvores, buracos em muros, ou qualquer objeto que se encontra abandonado (MONTEIRO *et al.*, 2022; WITTER; BLOCHTEIN, 2009). Além de produzir mel e própolis passíveis de serem comercializados, essas abelhas são importantes polinizadores, tanto de espécies de interesse econômico, quanto de interesse ambiental (KERR, 1997).

A polinização consiste em um processo ecológico de relevância na perpetuação e manutenção das espécies vegetais, como na produção de sementes e frutos (JUNIOR *et al.*, 2021). Esse processo pode ser efetuado através da autopolinização de forma direta, sem precisar de polinizadores ou pela polinização cruzada, pela troca de pólen dos órgãos femininos e masculinos das flores, com a presença de polinizadores (componentes abióticos ou bióticos) (PAIXÃO *et al.*, 2021).

As abelhas são polinizadoras de maior relevância. Com o comportamento de visitar flores para a coleta de pólen e néctar para seu consumo, realizam consequentemente o transporte de pólen nas culturas (SOUZA *et al.*, 2007). Segundo Kerr (1997), os meliponíneos (ASF) apresentam destaque na produção de pólen e mel, na composição de produtos medicinais. Além disso, apresentam grande potencial na polinização de plantas nativas, abrangendo até 90% das espécies da Mata Atlântica e Amazônia.

Apesar da importância estratégica das abelhas para a produção agrícola e preservação ambiental, muito estressores provenientes das atividades humanas vem comprometendo as suas populações em diferentes biomas brasileiros.

Schuwart *et al.* (2019) constataram que o Brasil corresponde um dos países que

mais utilizam defensivos agrícolas no controle de pragas e doenças na agricultura, como resultado da sua expansão agrícola. O uso indiscriminado de agrotóxicos na agricultura afetam diretamente às abelhas, por meio de intoxicações que podem afetar o comportamento, fisiologia, alterar suas habilidades motoras, prejudicando, assim o serviço de polinização realizado, como sendo capaz de levar esses indivíduos à morte (JACOB *et al.* 2019; FAITA *et al.*, 2018).

Um levantamento das perdas de colônias de abelhas no Brasil observaram que mais de 19 mil colônias de abelhas foram perdidas, sendo as espécies mais afetadas a *Apis mellifera* e *T. angustula* (Castilhos *et al.*, 2019). Para esses autores a principal suspeita da perda das abelhas são o uso de pesticidas na agricultura, no controle de doenças e pragas, como de plantas daninhas, sendo o fipronil o pesticida mais mencionado, seguido dos inseticidas neonicotinoides, clotianidina e tiametoxam aplicados em lavouras com laranjais e cana-de-açúcar situadas no estado de São Paulo (CERQUEIRA, 2017; DELLAMATRICE *et al.*, 2014).

As abelhas podem ser expostas aos herbicidas por diversas formas, pela exposição tópica (aguda ou crônica) no momento em que ocorre a aplicação do herbicida em áreas de cultivos, como também pela ingestão do produto, sendo encontrado no néctar e pólen das plantas que elas visitam e transportam, podendo manter-se no interior das colônias por um estipulado tempo (PRADO, 2022; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014). Entre os produtos químicos mais utilizados na agricultura, encontra-se o glifosato (GLY), como ingrediente ativo mais comercializado no Brasil, com um total de 173 mil toneladas comercializados em 2017 (ANVISA, 2018).

Quando utilizado nas doses recomendadas, o GLY controla as ervas daninhas que chegam a competir com as culturas alimentares (HERBERT *et al.*, 2014). A ação desse herbicida é destinado apenas a plantas, fungos e microrganismos (DUKE *et al.*, 1989), no entanto estudos abordam a toxicidade desse produto e os efeitos que podem gerar aos polinizadores, pelo fato de diminuir os recursos, causando prejuízo ao ecossistema ambiental (BALBUENA *et al.*, 2015).

Nesse contexto, dada a relevância do processo de polinização para a produção agrícola e sua relação com o uso de herbicidas, o objetivo desse estudo é avaliar a toxicidade e os efeitos do herbicida glifosato na espécie de abelha *T. Angustula*, assim como compreender as possíveis alterações no seu comportamento.

## 2 JUSTIFICATIVA

A compreensão da toxicidade de herbicidas para as abelhas *Tetragonisca angustula* é de grande importância para conduzir diretrizes no controle de seu uso, associadas a conservação desses insetos polinizadores, reduzir ou amenizar eventuais efeitos negativos na saúde das abelhas. Nesse contexto, esse estudo abordou os possíveis efeitos tóxicos do herbicida glifosato em *T. angustula* por alimento contaminado.

O Brasil, possui grande biodiversidade de espécies de abelhas. Destaca-se como o país com a maior diversidade de ocorrência de espécies de abelhas sem ferrão do mundo (CAMARGO; PEDRO, 2013). Em todo o planeta, as abelhas desempenham um papel fundamental no meio ambiente, realizando a polinização da maioria das espécies vegetais tanto em ecossistemas naturais quanto em culturas agrícolas, o que impacta positivamente na produção de frutos e manutenção dos ecossistemas (NICHOLLS; ALTIERI, 2013).

Contudo, a utilização excessiva representa grave ameaça às abelhas sem ferrão (TOLEDO-HERNÁNDEZ et al., 2022). Estudos científicos têm demonstrado diversos efeitos tóxicos de diferentes pesticidas em diversas espécies de abelhas sem ferrão, comprovando o risco que esses estressores representam para as abelhas (MOTTA et al., 2020; NOCELLI et al., 2019; SEIDE et al., 2018; HERBERT et al., 2014).

No Brasil, existem mais de três mil formulações de produtos fitossanitários registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entre 2017 e 2022, foram liberadas 1.532 novas formulações comerciais (MAPA, 2022). Dos mais de três mil produtos registrados no MAPA, 29% deles são da classe herbicida, a qual pertence o glifosato, o ingrediente ativo mais comercializado no Brasil, com mais de 246 mil toneladas comercializadas em 2020 (IBAMA, 2021).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do herbicida glifosato no comportamento e sobrevivência da espécie de abelha *Tetragonisca angustula* (Latreille,1811) pela via de exposição ingestão de alimento contaminado, de forma a obter informações sobre a toxicologia.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a quantidade de abelhas *Tetragonisca angustula* (Latreille,1811) mortas e sobreviventes após a ingestão do alimento contaminado com glifosato.
- Avaliar os efeitos no comportamento das abelhas após a ingestão do glifosato.
- Estimar a Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) da formulação comercial do glifosato para a espécie de abelha estudada.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Importância das abelhas sem ferrão na agricultura

No Brasil, existe uma diversidade de espécies com potencial de polinizar espécies cultivadas, sendo a sua maioria insetos (KLEIN *et al.*, 2020). As abelhas estão entre a maior classe de polinizadores e visitantes florais, associados à produção agrícola, otimizando a produção dos frutos e sementes, sendo essencial para a manutenção da diversidade vegetal e equilíbrio de ecossistemas (VIEIRA *et al.*, 2021; BPBES/REBIPP *et al.*, 2019).

As abelhas sociais sem ferrão (ASF) apresentam potencial para polinizar variadas culturas de interesse econômico (CHAM *et al.*, 2019), como exemplo, tomateiro (VINÍCIUS-SILVA *et al.*, 2017), açaizeiro (VENTURIERI, 2008), berinjela, pimentão verde, pimenta vermelha e cupuaçu (VENTURIERI *et al.* 2012), além de maçeira (VIANA *et al.*, 2014), do pepino (NICODEMO *et al.*, 2013) e do morangueiro (SILVA *et al.*, 2020).

De acordo com Malagodi (2022), a abelha *Tetragonisca angustula* se destaca como um dos principais polinizadores da cultura do morango, principalmente em cultivos em estufa. As colônias de ASF são transportáveis nos meliponários, que corresponde ao local de criação destas abelhas, podendo ser levadas para cultivos, como em estufas, assegurando o serviço desses polinizadores (BAPTISTA *et al.*, 2018).

A meliponicultura corresponde a uma atividade que tem como princípio a criação de ASF, obtendo-se ao mesmo tempo variados produtos e subprodutos a exemplo do mel, geoprópolis, a cera, própolis, cerume, pólen, como também a comercialização de colônias (CONAMA, 2020; FERREIRA *et al.*, 2017; WITTER; NUNES-SILVA, 2014; VENTURIERI, 2008; NOGUEIRA-NETO, 1997).

À medida que a meliponicultura cresce no Brasil, cada vez mais aumenta a procura por colônias e o meliponicultor pode ter o seu trabalho voltado para a produção dessas colônias (multiplicação) para a venda, como pode também oferecer serviços de polinização agrícola (SANTOS *et al.*, 2021). No Brasil existe uma regulamentação para a criação de meliponíneos, além da aplicação educacional, dispõe a utilização dos seus produtos para comercialização (mel e pólen), bem como para o serviço de polinização ofertado pelo aluguel ou venda das colônias (SANTOS *et al.*, 2021; CONAMA, 2020).

Considerando a importância das ASF, algumas pesquisas apontam o declínio da população de meliponíneos, associando ao mesmo tempo a diferentes estressores que podem comprometer sua sobrevivência. Entre os quais, se encontram ação de patógenos e parasitos, alterações no clima, o desmatamento, a disputa por recursos e o uso de pesticidas (TOLEDO-HERNANDÉZ *et al.*, 2022; GUIMARÃES *et al.*, 2020).

#### 4.2 Abelha sem ferrão: *Tetragonisca angustula*

*Tetragonisca angustula* é conhecida popularmente como “jataí”, mosquito-amarelo, abelha-ouro, maria-seca, três-portas, mosquitinha-verdadeira, entre outros (Moure, 2012). Esta abelha pertencente à família Apidae Latreille (1802), subfamília Apinae e tribo Meliponini, tendo ampla distribuição natural no Brasil com ocorrência em 20 estados (CAMARGO; PEDRO, 2013).

A jataí é considerada uma abelha de pequeno porte (4 a 5 mm), possui coloração dourada e hábitos de nidificação em diversos lugares, desde buracos em muros, pedras, como em troncos (ocos) de árvores, colunas em construção, frestas em casas, podendo se instalar até em ambientes degradados (Figura 1) (MOURE, 2012; LORENZON *et al.*, 2014; BERGAMASCHI, 2019).

Figura 1. Entrada do ninho de *Tetragonisca angustula*.



Fonte: Acervo Insecta (2022).

As colônias de meliponíneos são constituídas por uma rainha e diversas operárias, que fazem o trabalho de coleta do néctar e pólen para a alimentação das larvas na parte interior da colônia, como acumulam mel na colmeia para esta finalidade (FLETCHER et al., 2020). O ninho da *T. angustula* contém 2.000 a 5.000 indivíduos e as colônias quando fortes, podem atingir um número de até 10.000 abelhas (VAN VEEN; SOMMEIJER, 2000).

A estrutura do ninho é composta por disco de crias, ordenados horizontalmente em camadas justapostas, com cerume ao seu redor para proteção (CORTOPASSI-LAURINO; NOGUEIRA-NETO, 2003). Enquanto na entrada do ninho desta espécie, tem-se um tubo de cera ou cerume, com coloração na variação marrom-amarelado, pequeno (3-4 cm) que é fechado durante à noite (Figura 1) (JONES et al., 2012; GRÜTERET et al., 2012).

Uma das características dessa espécie é a vigilância contra possíveis predadores em frente ao ninho, sendo executado por guardas que flutuam e quando identificam intrusos próximos, impedem que alcancem a entrada do ninho (SHACKLETON et al., 2018). Dessa forma, a vigilância realizada por essas abelhas para combater predadores é essencial para a manutenção do grupo, além de auxiliar na busca por predadores, contribui para a subsistência individual da espécie (BEAUCHAMP, 2017).

O mel da *T. angustula* possui propriedades medicinais, sendo muito procurado no mercado, principalmente pelo sabor ácido e aroma específico. (NOGUEIRA-NETO, 1997). Essa espécie produz também o própolis, pólen e cera que apresentam uma ótima qualidade (MATTOS et al., 2014).

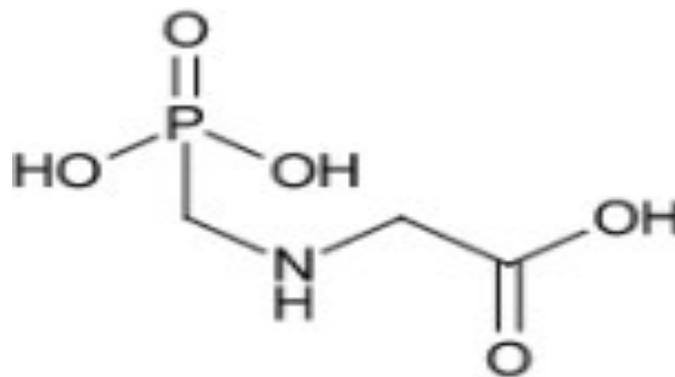
*Tetragonisca angustula* é apontada como uma das abelhas mais generalistas, coletando em várias plantas seus recursos alimentares (BERGAMASCHI, 2019). Além disso, apresenta potencial para contribuir com a produtividade do morango (MALAGODI, 2010); pimentão (NASCIMENTO et al., 2012); acerola (OLIVEIRA, 2015); podendo elevar a qualidade de sementes de cenoura (NASCIMENTO et al., 2012) e canola (CAMARGO, 2017).

### 4.3 Glifosato e sua toxicidade em abelhas

O glifosato é um herbicida que faz parte do grupo químico da glicina substituída, com nome químico [N-(fosfometil)glicina], apresentando fórmula molecular  $C_3H_8NO_5P$  e fórmula estrutural (Figura 2) (ANVISA, 2022). É utilizado no controle de

plantas daninhas perene e anuais, sendo o agroquímico mais utilizado no Brasil (RIBRAS *et al.*, 2022). Segundo a Agrofit (2021) no que se refere à classificação ambiental, o glifosato é classificado como a classe III, um produto que traz riscos ao meio ambiente.

Figura 2. Fórmula estrutural do herbicida glifosato [n-(fosfometil)glicina].



Fonte: Anvisa (2022).

Embora o glifosato tenha sido considerado um herbicida com baixa toxicidade para as abelhas sociais, ainda assim, alguns estudos demonstram que ele pode afetar sua fisiologia e comportamento, quando expostos ao produto durante a pulverização (FARINA *et al.*, 2019; VÁZQUEZ *et al.*, 2020a; VÁZQUEZ *et al.*, 2020b). Além disso, pode reduzir a diversidade floral que é essencial para coleta de alimento (néctar e pólen) por essas abelhas, mesmo utilizando esse produto em concentrações e doses prescritas pelo fabricante (BATTISTI *et al.*, 2021).

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA), divulgou um documento que seleciona espécies de abelhas nativas para análise de risco de pesticidas, na qual a abelha sem ferrão *T. angustula* ocupa o segundo lugar (Tabela 1) das espécies de abelhas sociais sem ferrão consideradas prioritárias para testes de avaliação de risco de defensivos agrícolas, com pontuação 24 (PIRES; TOREZANI, 2018).

Estudos avaliando índice incidência de defensivos agrícolas em algumas amostras de méis, constataram resíduos do herbicida glifosato, com um máximo de 0,22 ( $\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$ ), em 38% de 40 amostras de diferentes regiões do Brasil. Este resultado indica que o glifosato pode estar relacionado com o desaparecimento de colônias de abelhas, além de trazer riscos à saúde humana, pela ingestão destes produtos

contaminados (SOUZA *et al.*, 2020).

Foi verificado também em apiários, a presença do glifosato em outros produtos das abelhas, como na cera, com menor frequência (26%), quando comparada ao pólen que atingiu um valor de 81,5% de amostras analisadas com resíduos deste herbicida (EL AGREBI *et al.*, 2020).

Tabela 1. Espécies de abelhas sociais e solitárias prioritárias para análise de risco de pesticidas

<b>Espécies Sociais</b>	<b>Pontuação Final</b>
<i>Trigona spinipes</i>	28
<i>Tetragonisca angustula</i>	24
<i>Nannotrigona testaceicornis</i>	22
<i>Melipona scutellaris</i>	21
<i>Melipona quadrifasciata</i>	20

Fonte: Pires & Torezani (2018).

No geral, para compreender melhor a toxicidade do glifosato e as reações que ocorrem nas abelhas, como de outros agroquímicos, é de extrema importância a realização de estudos na área. Além de avaliar possíveis impactos no ambiente, os estudos em condições de laboratório possibilita perceber riscos que podem se camuflar em situações mais complexas (FARINA *et al.*, 2019).

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Local do experimento

O experimento foi desenvolvido no Núcleo de Estudo dos Insetos (INSECTA) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), em Cruz das Almas, em outubro de 2022.

### 5.2 Obtenção das abelhas para o bioensaio

Para a realização do teste de toxicidade foi submetida uma autorização ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), para coleta das abelhas estudadas, autorização concedida sob o número 85006-1.

As abelhas operárias da colônia de *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811), foram capturadas de colônias de criação racional, instaladas em caixas modelo INPA

(12x12cm), composta por fundo, ninho, sobreninho e tampa (Figura 2B). As abelhas foram coletadas com um aparelho sugador (Figura 2A) na entrada da colônia e colocadas em tubos de Falcon de 50 ml, posteriormente foram transportada ao Laboratório de Criação e Comportamento dos Insetos do INSECTA/CCAAB/UFRB.

Figura 3. A- Coleta das abelhas com aparelho sugador. B- Caixas modelo INPA.



Fonte: Acervo Insecta, 2022.

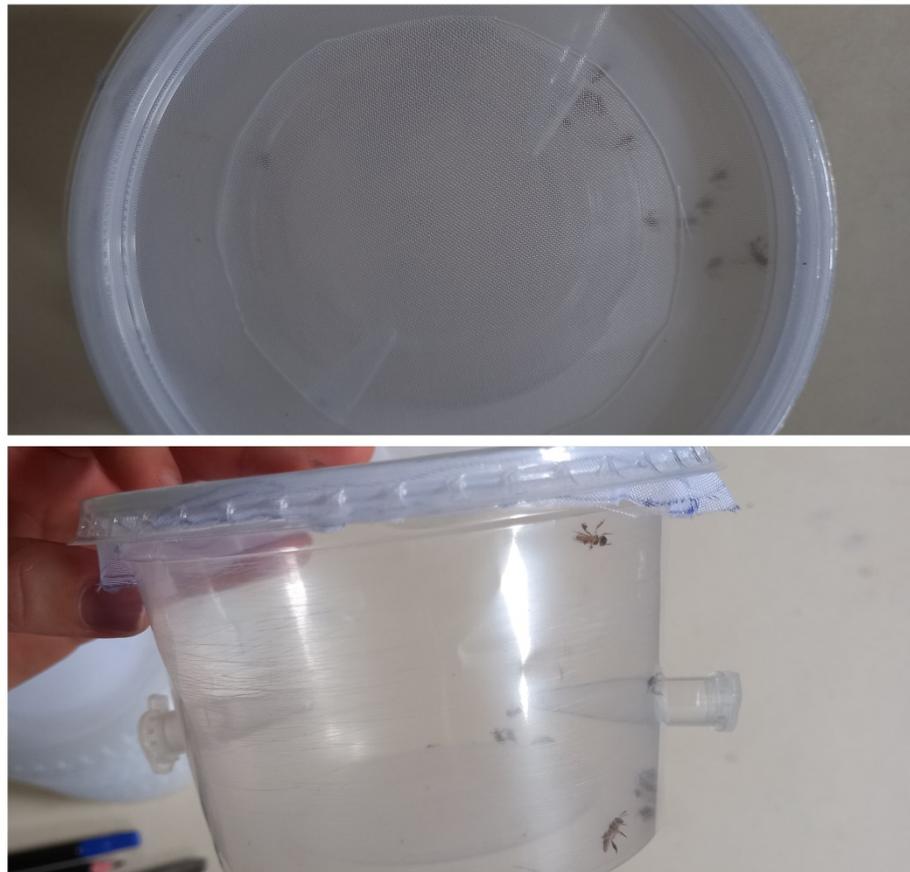
### 5.3 Preparativos para o experimento e delineamento experimental

No bioensaio foi aplicado o produto comercial Preciso xK®, com ingrediente ativo N-(phosphonomethyl)glycine (GLIFOSATO). Para a realização do trabalho foi considerada as concentrações: 19,75  $\mu\text{l}/\text{mL}$  (metade da maior dose recomendada pelo fabricante); 39,5  $\mu\text{l}/\text{mL}$  (maior dose recomendada pelo fabricante) e 79  $\mu\text{l}/\text{mL}$  (dobro da maior dose recomendada pelo fabricante). O produto comercial foi avaliado por meio da via de exposição por alimento contaminado (ingestão). Para isso, utilizou-se o método internacional preconizado pela OECD - *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD 213, 1998), criado para *Apis mellifera*, com ajustes no que diz respeito à anestesia das abelhas, sendo utilizado o resfriamento a  $-14^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto e 58 segundos de acordo com ensaios previamente realizados e no fornecimento do alimento contaminado que se deu durante todo o experimento.

Foram testadas três concentrações do produto comercial no xarope na proporção 1:1 (água e açúcar cristal), sendo os tratamentos: T1 – controle (alimento sem aplicação do produto comercial); T2 — 19,75  $\mu\text{l}/\text{mL}$  (metade da maior dosagem

recomendada pelo fabricante); T3 –(maior dosagem recomendada pelo fabricante) e T4 – 79  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (duas vezes a maior dosagem recomendada pelo fabricante). Foram utilizadas três repetições (gaiolas) por cada tratamento, com 10 abelhas distribuídas nas gaiolas, totalizando em 120 abelhas. As gaiolas foram confeccionadas com potes plásticos (500 ml), com uma abertura na tampa coberta por voil, para circulação de ar e duas aberturas laterais para o encaixe dos Eppendorf (Figura 4). O interior das gaiolas foi lixado, para melhor aderência e facilitar o acesso das abelhas aos alimentadores.

Figura 4. Confeção das gaiolas.



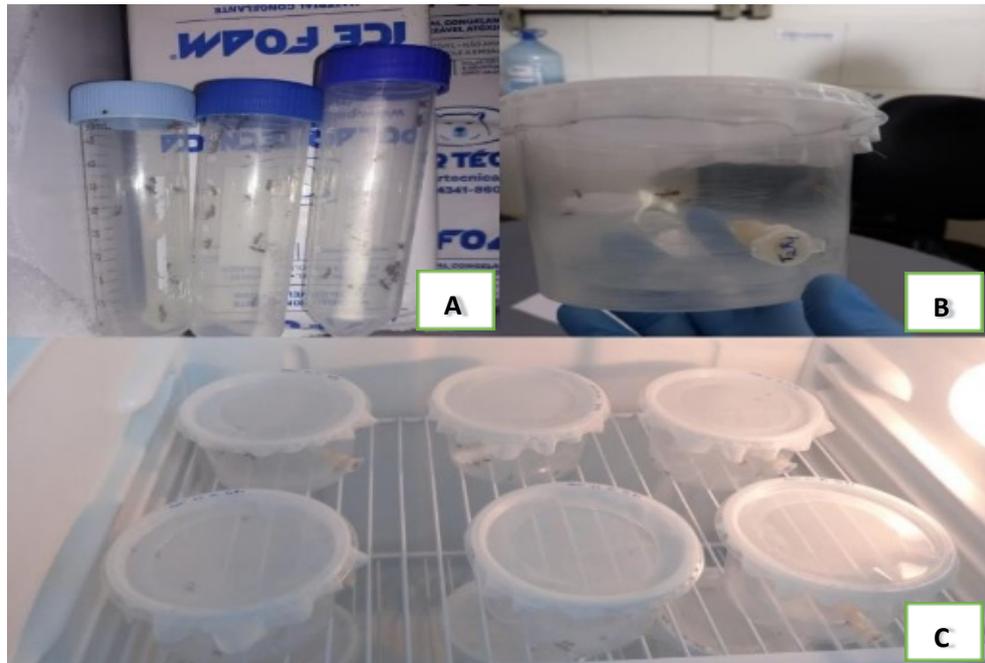
Fonte: Acervo Insecta, 2022.

#### 5.4 Instalação do experimento e avaliações

As abelhas coletadas em campo foram anestesiadas por resfriamento em um tubo tipo Falcon e levadas para o freezer a  $-14^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto e 58 segundos. Logo, em seguida, as abelhas foram colocadas nas gaiolas e mantidas em câmaras climatizadas tipo BOD (demanda bioquímica de oxigênio), reguladas à  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa

de  $70 \pm 10\%$ , sem suprimento de água e alimento por duas horas (Figura 5). Após esse período, os tratamentos foram instalados, por meio da inserção de dois tubos do tipo *Eppendorf* um com alimento (xarope na proporção 1:1), com adição do herbicida glifosato nas concentrações estabelecidas para cada tratamento ( $19,75 \mu\text{l/mL}$  (T2);  $39,5 \mu\text{l/mL}$  (T3) e  $79 \mu\text{l/mL}$  (T4) e o outro somente com água destilada. Os *Eppendorf* possuíam uma abertura na ponta e algodão no seu interior para evitar que as abelhas sejam afogadas. O alimento foi fornecido durante todo o período do experimento. No tratamento controle não será ofertado o xarope (1:1) com adição do herbicida.

Figura 5. A- Abelhas anestesiadas por resfriamento em um tubo tipo falcon. B- Gaiola com o experimento já instalado. C- Gaiolas mantidas na BOD.

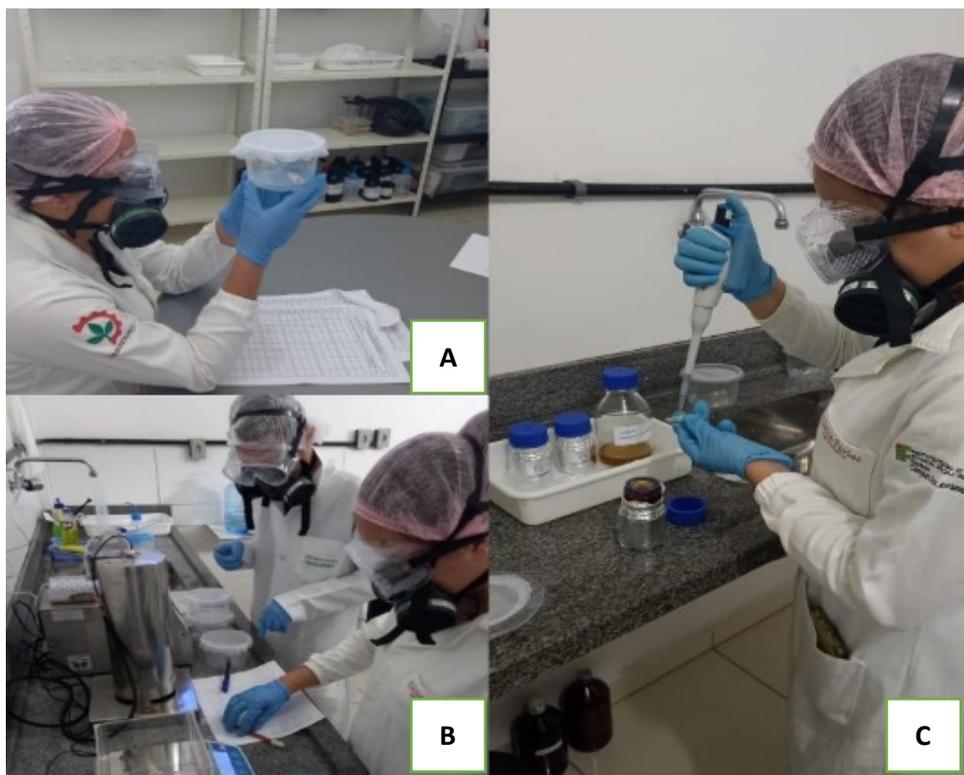


Fonte: Acervo Insecta, 2022.

As avaliações foram realizadas nos intervalos de tempo de uma, seis, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a aplicação dos tratamentos, sendo registrado o número de abelhas vivas e mortas em cada período de avaliação (Figura 6A), observado os efeitos subletais: Paralisia (as abelhas não podem andar e apresentam apenas movimentos muito fracos das pernas e antenas, com fraca resposta estimulação, como exemplo, sopro ou luz, essas abelhas podem recuperar, mas geralmente morrem); Dificuldade de Locomoção (abelhas ainda em pé e ao tentar andar mostram sinais de redução da coordenação, tremores e aumento do comportamento de auto- limpeza); Agitação (abelhas voando no interior da gaiola ou se locomovendo rápido, respondendo ao estímulo da luz); Desorientação (abelhas que não apresentam dificuldades de

locomoção, mas não seguem as abelhas que vão na direção da luz, geralmente andam em círculo); Prostração (abelhas com reações baixas ou retardadas a estimulação, como exemplo, sopro do ar ou luz, ficando paradas sem movimento na gaiola) e Agitação das Asas (abelhas paradas com o abdômen erguido e batendo asas rapidamente) (OECD 245, 2017). Foram consideradas mortas, aquelas abelhas que não respondiam ao estímulo com pincel de pelo fino.

Figura 6. A- Avaliação do experimento. B- Pesando os *Eppendorf*. C- Repondo alimento nos *Eppendorf*.



Fonte: Acervo Insecta, 2022.

## 5.5 Interpretação dos dados

Para a realização do experimento utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e três repetições. As análises foram realizadas no software estatístico R Core Team® (2022). Os dados foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o pacote Survival, assim gerando as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier para determinar a proporção de abelhas sobreviventes em cada intervalo de tempo após a aplicação do Glifosato. Em seguida, foi realizado o teste de Logrank para testar a hipótese nula de que as curvas de sobrevivência foram idênticas. Os dados também foram submetidos a análise de dose-resposta e analisados

pelo modelo log-logístico utilizando o pacote DRC. Com isso, foi estimada a Concentração Letal Mediana (CL<sub>50</sub>) da formulação comercial do glifosato para a espécie de abelha estudada.

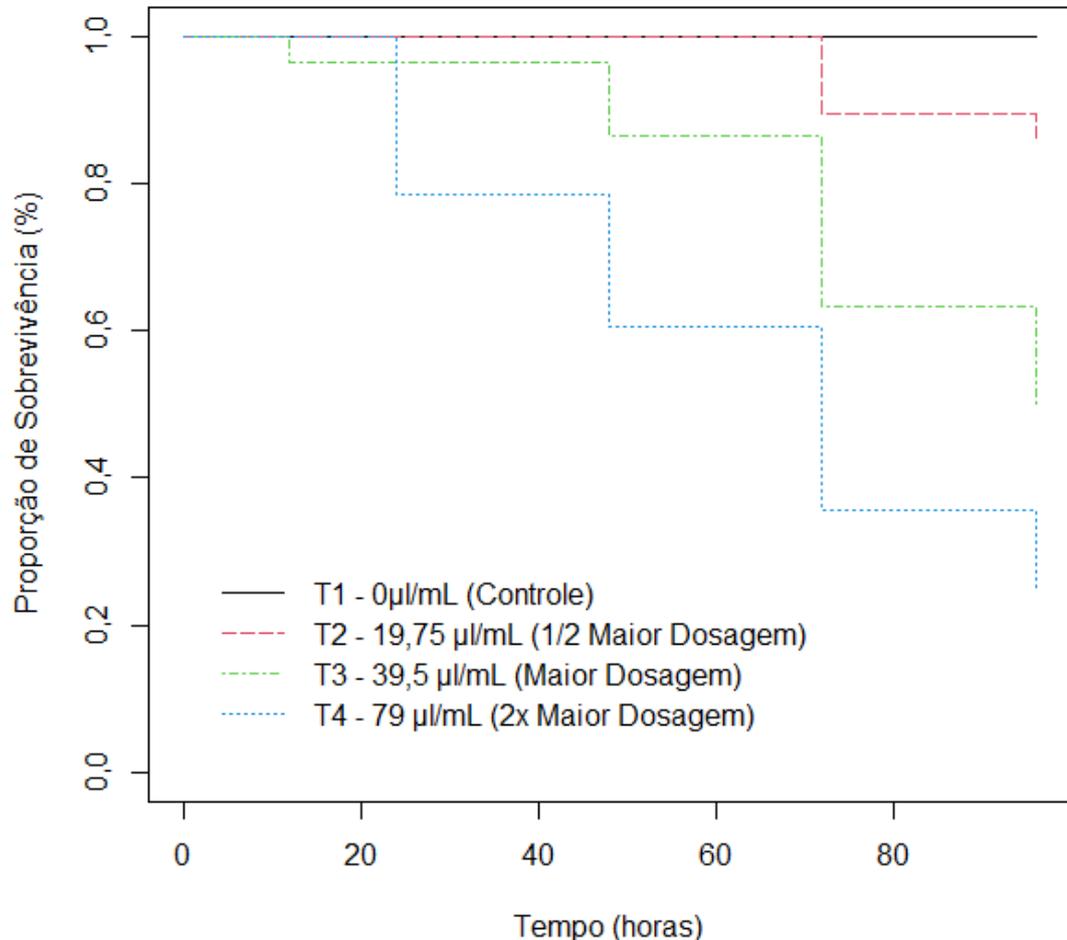
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de sobrevivência de Kaplan-Meier foi significativa entre os tratamentos ( $p < 0,01$ ), indicando que houve diferença estatística entre as concentrações testadas (Figura 7). As abelhas *Tetragonisca angustula* contaminadas com a dosagem superior à recomendada para aplicação em campo apresentaram alterações no comportamento após uma hora de exposição ao glifosato (GLY), apresentando agitação, desorientação, dificuldade de locomoção e agitação das asas (Figura 8A).

A partir de seis horas de observação os demais tratamentos em que houve contaminação com glifosato apresentaram: agitação, desorientação, prostração, dificuldade de locomoção e agitação das asas. Pode-se observar que a medida que a concentração de glifosato foi aumentada nos tratamentos, houve também um aumento no percentual de abelhas que apresentaram alterações comportamentais (Figura 8).

A partir de 12 horas de avaliação, iniciou a mortalidade das abelhas e as que permaneceu vivas apresentou comportamentos: de agitação, desorientação, paralisia, prostração, dificuldade de locomoção e agitação das asas (Figura 8). Nocelli *et al.*, (2019), trabalhando com a espécie *Melipona scutellaris* expostas ao glifosato oralmente foi encontrou o mesmo comportamento observados na *T. angustula*.

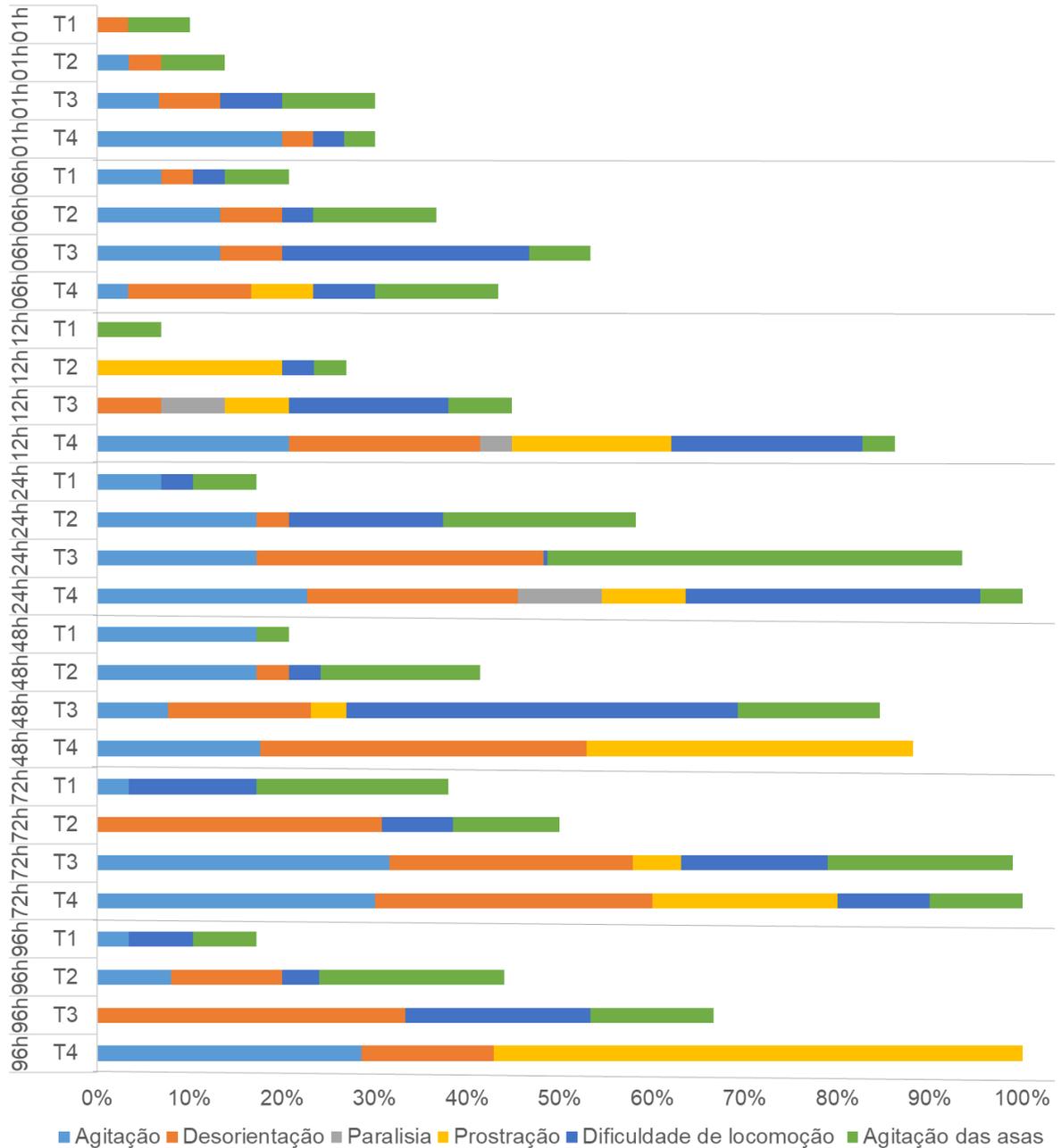
Figura 7. Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier para *T. angustula*, a partir do tempo de exposição (horas) a dosagens diferentes de glifosato.



Em uma pesquisa realizada por Prado *et al.* (2022), avaliando os efeitos no comportamento e locomoção da *T. angustula* exposta ao glifosato por ingestão, comprovou que esta abelha foi sensível em todas doses testadas. Além disso, na avaliação de locomoção das 150 abelhas no teste: 44,6% não completaram o percurso (12,6% voltaram em direção a luz, 14% manteve-se na pista e 18% morreram) e 22,6% com comportamento auto limpante e 28% com tremores.

Em outro estudo avaliando a toxicidade do GLY por ingestão na ASF *Melipona quadrifasciata*, observou-se que mesmo usando a dose recomendada do produto no rótulo, das 432 abelhas avaliadas: causou a mortalidade de 2% e maioria das abelhas apresentaram desorientação, como também dificuldade para se locomover, percorrendo uma menor distância no percurso (BERNARDES *et al.*, 2022).

Figura 8. Percentuais de abelhas que apresentaram algum tipo de alteração comportamental durante o experimento. Dados referentes as avaliações após 1, 6, 12 horas, 24, 48, 72 e 96 horas.



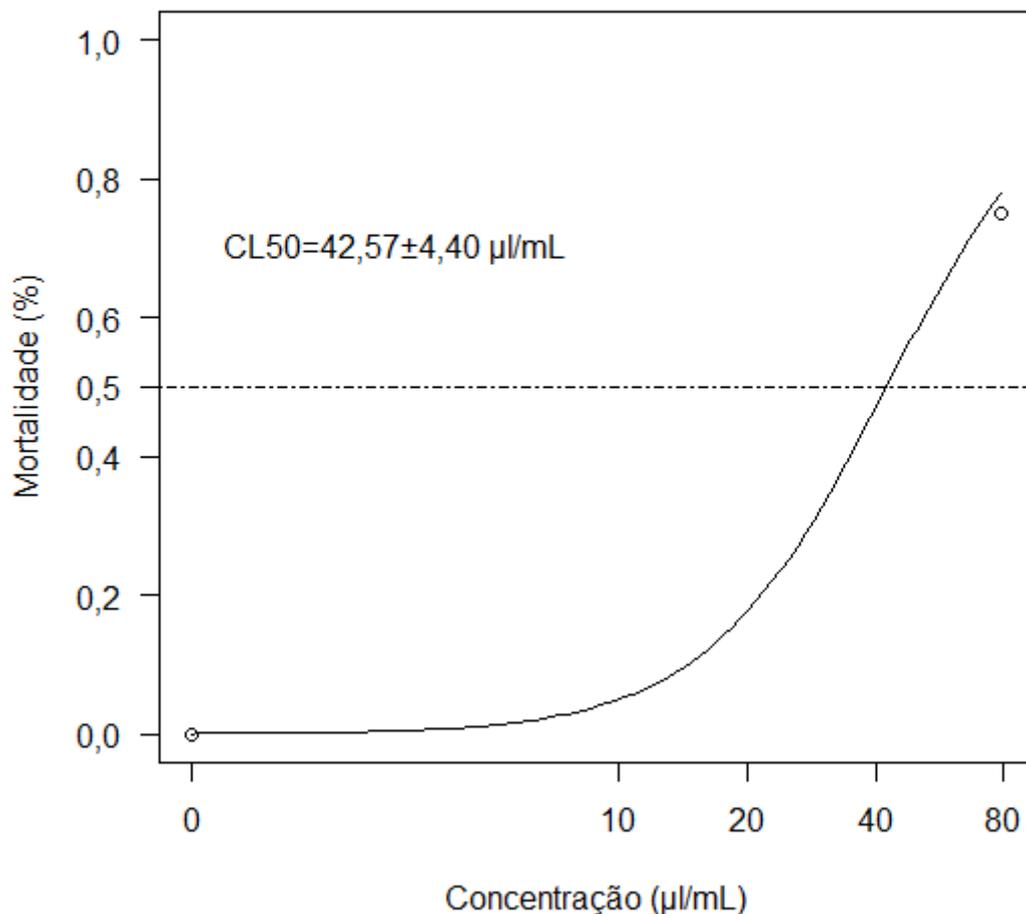
Os resultados desse estudo apontam que a *T. angustula* é sensível as dosagens do herbicida glifosato analisadas. O tratamento quatro (dobro da maior dosagem do produto) foi o que teve uma menor taxa de sobrevivência dessas abelhas, com uma taxa de 75% de mortalidade, podendo ser observado que a mortalidade aumenta à medida em que a dosagem do produto é elevada (Tabela 2 e Figura 7). Os indivíduos que não foram expostos ao glifosato obteve-se uma taxa de sobrevivência de 100%.

Tabela 2. Percentual de abelhas sobreviventes à exposição ao Glifosato por ingestão de alimento contaminado.

Tratamentos	Sobrevivência (%)	IC <sub>95%</sub>
T1	100,0	-
T2	86,2	74,5-99,7
T3	50,0	35,0-71,5
T4	25,0	13,2-47,5

A Curva de Dose-Resposta para determinação da CL<sub>50</sub> do Glifosato em *T. angustula* via ingestão, corresponde a concentração do produto que pode causar a morte de 50 % das abelhas no final do teste (OECD 245, 2017), o qual obteve um valor de  $42,57 \pm 4,40 \mu\text{l/ml}$  (Figura 9). A dosagem máxima recomendada pelo fabricante em campo pode ser letal para espécie de abelha em estudo.

Figura 9. Curva de Dose-Resposta para determinação da CL<sub>50</sub> de uma formulação comercial do Glifosato para *Tetragonisca angustula* via de exposição por ingestão.



Por outro lado, estudos avaliando toxicidade de outras formulações de GLY por ingestão nas abelhas *T. angustula* e *Apis mellifera* em concentrações de campo, relataram uma baixa taxa de mortalidade (RUIZ-TOLEDO, 2014). Já quando testada a toxicidade do glifosato em larvas de outra espécie de abelha sem ferrão (*Melipona quadrifasciata*) Seide *et al.* (2018) observaram 100% de mortalidade das larvas em apenas alguns dias de exposição.

É importante ressaltar que o glifosato nem sempre induz a mortalidade imediata das abelhas, mas pode provocar efeitos colaterais no comportamento, tais como: alterações na microbiota intestinal (MOTTA *et al.*, 2020); no forrageamento (BALBUENA *et al.*, 2015); alterações em processos fisiológicos, ocasionando má nutrição ou deixando às abelhas vulneráveis a agentes patogênicos (LEDOUX *et al.*, 2020); mal formação da antena (VÁZQUEZ *et al.*, 2020a); além da redução na sensibilidade à sacarose, aprendizagem e retenção da memória a curto prazo (HERBERT *et al.*, 2014).

## 7 CONCLUSÃO

O glifosato na formulação comercial testada apresentou alterações no comportamento de indivíduos da abelha *Tetragonisca angustula*, quando expostos a alimento contaminado com esse produto. Além disso, causou alta taxa de mortalidade na maior dosagem recomendada pelo fabricante. Os resultados deste estudo evidenciam o potencial tóxico do Glifosato, além de possíveis efeitos subletais deste produto que podem comprometer a saúde e sobrevivência dessas abelhas.

## REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Relatório Consolidado de Produtos Técnicos. 2021. [online]. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/carta-tas-de-servico/defesa-agropecuaria-agrotoxicos/agrotoxicos-registrados-no-agrofit>. Acesso em: 28 de set. de 2022.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Índice Monográfico: G01Glifosato .2022. [online]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/g-h-i/4378json-file-1/view>. Acesso em: 26 de set. de 2022.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica nº23/2018/SEI/CRE AV/GEMAR/GGTOX/DIRE3/ ANVISA. [Brasília, DF]: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2018. [acesso em 2022 set 20]. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://apublica.org/wp-content/uploads/2020/09/nota-tecnica-23-de-2018-glifosato.pdf>. Acesso em: 10 de set. de 2022.
- BALBUENA, M.S.; TISON, L.; HAHN, M.L.; GREGGERS, U.; MENZEL, R.; FARINA, W. M. Effects of sub-lethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **The Journal of Experimental Biology**, v.218, n.17, p.2799-2805, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205074>.
- BAPTISTA, P. *et al.* Metodologia para avaliar a adaptação de abelhas Meliponini (Hymenoptera: Apidae) às condições de cultivos protegidos. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 27. ;CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENTOMOLOGIA, 10., Gramado. Saúde, ambiente e agricultura. Anais... Gramado: SEB, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1100537/metodologia-para-avaliar-a-adaptacao-de-abelhas-meliponini-hymenoptera-apidae-as-condicoes-de-cultivos-protegidos>. Acesso em: 09 de agosto de 2022.
- BATTISTI, L. *et al.* O glifosato é tóxico para as abelhas? Uma revisão meta-analítica. **Ciência do Ambiente Total**, v. 767, p. 145397, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145397>.
- BEAUCHAMP, G. A distribuição espacial de forrageiras e manchas de alimento pode influenciar na vigilância antipredadora. **Ecologia Comportamental**, v. 28, n. 1, p. 304-311, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/beheco/arw160>
- BERGAMASCHI, C. L.; ALENCAR, I. de C. C. de. **Guia didático das abelhas sem ferrão do Parque Natural Municipal Vale do Mulembá**. Espírito Santo:Edifes, 2019. p. 1-61. Disponível em: [https://vilavelha.ifes.edu.br/images/stories/20182/tcc/christyan\\_guia\\_pnmvm\\_versaofinal.pdf](https://vilavelha.ifes.edu.br/images/stories/20182/tcc/christyan_guia_pnmvm_versaofinal.pdf). Acesso em: 25 set. 2022.
- BERNARDES, R. C. *et al.* Avaliação toxicológica de agroquímicos em abelhas usando ferramentas de aprendizado de máquina. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, Part A. p. 127344. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127344>.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. (2013). Meliponini Lepeletier, 1836. In Moure, J. S. Urban, D., & Melo, G. A. R. (org). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region-online version**. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2008033>

CAMARGO, S. C. Polinização em canola (*Brassica napus* L.) realizada por *Apis mellifera* e *Tetragonisca angustula*. Tese de doutorado em Zootecnia – Universidade estadual de Maringá. Maringá, PR. 2017. 97p. Disponível em: [https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id\\_trabalho=5335803](https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=5335803). Acesso em: 05 de agosto de 2022.

CASTILHOS, D.; BERGAMO, G. C.; GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Bee colony losses in Brazil: a 5-year online survey. **Apidologie**. v. 50, n. 3, p. 263-272, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00642-7>

CERQUEIRA, A.; FIGUEIREDO, R.A. Percepção ambiental de apicultores: desafios do atual cenário apícola no interior de São Paulo. **Acta Brasiliensis**, 1, 17–21, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22571/actabra3201754>.

CHAM, K. O. et al. Pesticide exposure assessment paradigm for stingless bees. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 1, p. 36-48, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/ee/nvy137>

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (2020). Resolução nº 496, de 19 de agosto de 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-496-de-19-de-agosto-de-2020-273217120>. Acesso em: 4 de set. de 2022.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P. Notas sobre a bionomia de *Tetragonisca weyrauchi* Schwarz, 1943 (Apidae, Meliponini). **Acta Amazonica**, v. 33, p. 643-650, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672003000400011>.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R.T.R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 1296-1301, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n12p1296-1301>.

DUKE, S.; LYDON, J.; PAUL, R. A atividade do oxadiazon é semelhante à dos herbicidas p-nitro-difeniléter. **Weed Science**, v. 37. n. 2, p. 152-160. 1989. DOI: <https://doi.org/10.1017/S004317450007171X>.

EL AGREBI, N.; TOSI, S.; WILMART, O.; SCIPPO, M-L.; DE GRAAF, D.C.; SAEGE RMAN, C. Honeybee and consumer's exposure and risk characterization to glyphosate-based herbicide (GBH) and its degradation product (AMPA): residues in beebread, wax, and honey. **Science of The Total Environment**, v.704, p.135312, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135312>.

FAITA M.R.; OLIVEIRA E.M.; ALVES V.V.; ORTH A.I.; NODARI R.N. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. **Chemosphere**. v. 211. p. 566-572. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.189>.

FARINA, W. M. et al. Effects of the herbicide glyphosate on honey bee sensory and cognitive abilities: individual impairments with implications for the hive. **Insects**, v. 10, n. 10, p. 354, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects10100354>.

FERREIRA, J. M. et al. Antioxidant activity of a geopropolis from northeast Brazil: chemical characterization and likely botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/4024721>.

FLETCHER, M.T. et al. Stingless bee honey, a novel source of trehalulose: a biologically active disaccharide with health benefits. **Science Report**, v.10, n.12128. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68940-0>.

GRÜTER, C., MENEZES, C., IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; RATNIEKS, F. L. W. A morphologically specialized soldier caste improves colony defense in a neotropical eusocial bee. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109. n4. p. 1182-1186. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1113398109>

GUIMARÃES, L. C. et al. Occurrence of virus, microsporidia, and pesticide residues in three species of stingless bees (Apidae: Meliponini) in the field. **The Science of Nature**, v. 107, n. 3, p. 1-14, 2020. DOI: [10.1007/s00114-020-1670-5](https://doi.org/10.1007/s00114-020-1670-5)

HERBERT, L. T. et al. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behavior. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, n. 19, p. 3457-3464, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1242/jeb.109520>.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. 2021. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 12 de out de 2022.

JACOB, C. R. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65-70, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.105>

JONES, S. M. et al. The role of wax and resin in the nestmate recognition system of a stingless bee, *Tetragonisca angustula*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**. v. 66 n. 1. p.1-12. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00265-011-1246-7>.

KERR W. E. A importância da meliponicultura para o país. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.1, p. 42-44, 1997. Disponível em: [https://www.academia.edu/29622459/ARTIGO\\_A\\_IMPORTANCIA\\_DA\\_MELIPONICULTURA\\_PARA\\_O\\_PAIS](https://www.academia.edu/29622459/ARTIGO_A_IMPORTANCIA_DA_MELIPONICULTURA_PARA_O_PAIS). Acesso: 10 set. de 2022.

KLEIN, A. M.; FREITAS, B. M.; BOMFIM, G. A.; BOREUX, V.; FORNOFF, F.; OLIVEIRA, M. O. A. **Polinização Agrícola por Insetos no Brasil**. Maranguape, Unifreiburg. 2020. DOI: <https://doi.org/10.6094/UNIFR/151237>

LEDOUX, M. L. et al. Penetration of glyphosate into the food supply and the incidental impact on the honey supply and bees. **Food Control**, v. 109, p. 106859, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106859>

LORENZON, M. C.; MORADO, C. N. (Ed.). **A abelha Jataí: flora visitada na Mata Atlântica**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 2014. Disponível em: <chromeextension://efaidnbnmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://eventos.ufrrj.br/abelhas2018/files/2018/07/Aabelhajata%C3%AD.compressed.pdf>. Acesso em: 10 set. de 2022.

LUNA-LUCENA, D.; RABICO, F.; SIMOES, Z. L.P. Reproductive capacity and castes in eusocial stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Current Opinion in Insect Science**, v. 31, p. 20-28, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.06.006>.

MALAGODI, K. S. B. A polinização como fator de produção na cultura do morango. Embrapa Meio Ambiente - Jaguariúna, SP, 13 p, (Comunicado Técnico 56), 2018. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/KatiaBraga/publication/325816781\\_A\\_polinizacao\\_como\\_fator\\_de\\_producao\\_na\\_cultura\\_do\\_morango/links/5b271481458515270fd5b04d/A-polinizacao-como-fator-deproducao-na-cultura-do-morango.pdf](https://www.researchgate.net/profile/KatiaBraga/publication/325816781_A_polinizacao_como_fator_de_producao_na_cultura_do_morango/links/5b271481458515270fd5b04d/A-polinizacao-como-fator-deproducao-na-cultura-do-morango.pdf). Acesso em: 14 set. 2022.

MALAGODI, K. S. B. A Polinização do Morangueiro (Fragaria x ananassa). SEMANA DOS POLINIZADORES, v. 2, p. 36-48, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/282977097\\_A\\_Polinizacao\\_do\\_Morangueiro\\_Fragaria\\_x\\_ananassa](https://www.researchgate.net/publication/282977097_A_Polinizacao_do_Morangueiro_Fragaria_x_ananassa). Acesso em: 14 de set. de 2022.

MATTOS, F. M.; NICODEMO, D.; DA ROCHA, E. A. Análises físico-químicas de mel de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*) cultivadas em Dracena, estado de Paulo. X SIMPÓSIO DE CIÊNCIA DA UNESP-DRACENA “PRODUÇÃO E CONSERVAÇÃO DE FORRAGEM”, p. 21. Disponível: <chromeextension://efaidnbnmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://editorapantanal.com.br/ebooks/2022/pesquisas-agrarias-e-ambientais-volum-e-xii/ebook.pdf>. Acesso em: 06 de set. de 2022.

MONQUERO, P.A.; OLIVEIRA, A.S. Os herbicidas causam impactos na sobrevivência e desenvolvimento de abelhas? **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.17, n.1, p.95-105, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100156>.

MONTEIRO, J.; AHLERT, A. Educação e sustentabilidade rural em um projeto de sensibilização escolar sobre abelhas. **Revista Livre de Sustentabilidade e Empreendedorismo**, v. 7, n. 1, p. 182-213, 2022. Disponível em: <http://www.relise.eco.br/index.php/relise/article/view/594/618>. Acesso em: 03 de set. de 2022.

MOTTA, E.V.S. et al. A exposição oral ou tópica ao glifosato na formulação de herbicidas afeta a microbiota intestinal e as taxas de sobrevivência das abelhas. **Microbiologia Aplicada e Ambiental**, v. 86, n. 18, 2020. DOI : <https://doi.org/10.1128/AEM.01150-20>.

MOURE, J. S. (2012). Apini Latreille, 1802. In Moure, J. S., Urban, D., & Melo, G. A. R. (Org.). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region – on line version**. Disponível em: <http://moure.cria.org.br/catalogue>. Acesso em: 05 de set. de 2022.

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. 449-498. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000300023>.

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, 14 abr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0092-y>.

NICODEMO, D.; MALHEIROS, E. B.; DE JONG, D.; COUTO, R. H. N. Enhanced production of parthenocarpic cucumbers pollinated with stingless bees and Africanized honey bees in greenhouses. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3625-3634, 2013. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n6Suppl1p3625.

NOCELLI, R. C. F.; SOARES, S. M. M.; MONQUERO, P. A. Effects of herbicides on the survival of the Brazilian native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Planta Daninha**, v. 37, 2019. DOI: 10.1590/S0100-83582019370100156.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis. 1997. Disponível em: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://www.acaic.com.br/site/pdf/livro\\_pnn.pdf](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/http://www.acaic.com.br/site/pdf/livro_pnn.pdf). Acesso em: 09 de set. de 2022.

OECD. Guideline for the Testing of Chemicals, No. 213: Honey bees: acute oral toxicity test. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris. 1998. DOI: <https://doi.org/10.1787/9789264070165-en>.

OECD. Test No. 245: Honey Bee (*Apis mellifera* L.), Chronic Oral Toxicity Test (10-Day Feeding), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1787/9789264284081-en>.

OLIVEIRA, M. P. DE, BRITO; B. B. P.; ALVES, E. M.; FAQUINELLO, P.; ALVES, R. M. DE O.; SODRÉ, G. DA S.; CARVALHO, C. A. L. Substratos vegetais utilizados para nidificação pelas abelhas *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *Scaptotrigona* sp. em área restrita do Bioma Caatinga. **Magistra**, v.24. n.3, 186-193. 2012. Disponível em: <http://docplayer.com.br/11524016-Plant-substrate-used-for-nesting-bees-melipona-quadrifasciata-anthidioides-and-scaptotrigona-sp-in-caatinga-bioma.html>. Acesso em: 10 de set. de 2022.

PAIXÃO, V.H.F., GOMES, V.G.N., VENTICINQUE, E.M. Florivory by lizards on *Tacina gainamoena* (K.Schum.) N.P.Taylor & Stuppy (Cactaceae) in the Brazilian Caatinga. **Biota Neotropica**, v. 21, n. 2, p. e20201109. DOI: <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2020-1109>.

PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. R. S. Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos. Brasília: Ibama, 2018. Disponível em: [http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/reavaliacao-ambiental/2018/Selecao\\_Especies\\_Abelhas\\_Nativas\\_para\\_Avaliacao\\_de\\_Risco\\_de\\_Agrotoxicos.pdf](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/reavaliacao-ambiental/2018/Selecao_Especies_Abelhas_Nativas_para_Avaliacao_de_Risco_de_Agrotoxicos.pdf). Acesso em: 22 de setembro, 2022.

PRADO, F.S.R. et al. Determination and uptake of abamectin and difenoconazole in the stingless bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 via oral and topic acute exposure. **Environmental Pollution**, v. 265, Part B, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114313>.

PRADO, I. S. et al. Glyphosate affects *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (Hymenoptera: Apidae) worker's locomotion, behavior and biology. **Ecotoxicology**. 2022. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2129592/v1>

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2022. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 25 de out. 2022.

RODRIGUES JUNIOR, D. M.; SANTOS, J. B. S. V. dos .; SANT'ANNA, D. O. . Polinização, abelhas-robô e a neutralidade da tecnologia. **Liinc em Revista**, v. 17, n. 1, p. e5608, 2021. DOI: <https://doi.org/10.18617/liinc.v17i1.5608>.

RUIZ-TOLEDO, J.; SÁNCHEZ-GUILLÉN, D. Efeito da concentração de glyphosate presente em águas corpóreas próximas a campos de soja transgênica sobre a abelha *Apis mellifera* e a abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**. vol.30, n.2, p.408-413. 2014. Disponível em <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372014000200014&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372014000200014&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 10 de setembro de 2022.

SANCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Pesticide residues and bees - A risk assessment. **PLOS ONE**, v. 9, n. 4, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094482>.

SANTOS, C. F.; RAGUSE-QUADROS, M.; RAMOS, J. D.; DA SILVA, N. L. G.; DE CARVALHO, F. G.; DE BARROS, C. A.; BLOCHTEIN, B. Diversidade de abelhas sem ferrão e seu uso como recurso natural no brasil: permissões e restrições legais consorciadas a políticas públicas. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v.9, n.2, p.2-22. 2021 DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5550763>.

SCHUWART, R. N. G. et al. Sem abelha, sem alimento: A morte dos polinizadores por contato com os agrotóxicos. Ratio Juris. **Revista Eletrônica da Graduação da Faculdade de Direito do Sul de Minas**, v. 2, n. 2, p. 127-131, 2019. Disponível em: <https://www.fdsm.edu.br/revistagrduacao/index.php/revistagrduacao/article/view/69/104>. Acesso em: 19 de agosto de 2022.

SEIDE, V. E. et al. Glyphosate is lethal and Cry toxins alter the development of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. **Environmental Pollution**, v. 243, p. 1854-1860, 2018. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.020>.

SHACKLETON, K.; ALVES, D.A.; RATNIEKS, F.L.W. Data from: Organisation enhances collective vigilance in the hovering guards of *Tetragonisca angustula* bees. **Dryad, Dataset**, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.h706tv8>.

SHACKLETON, K.; TOUFALIA, H. AL; BALFOUR, N. J.; NASCIMENTO, F. S.; ALVES, D. A.; RATNIEKS, F. L. W. Appetite for self-destruction: suicidal biting as a nest de fense strategy in Trigona stingless bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.69 n.2,

p.273-281. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00265-014-1840-6>.

SILVA, G. R. DA *et al.* Pollination service of *Nannotrigona testaceicornis* stingless bees in strawberry. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000292019>.

SOUZA, A. P. F.; RODRIGUES, N. R.; REYES, F. G. R. Glyphosate and amino methylphosphonic acid (AMPA) residues in Brazilian honey. **Food Additives & Contaminants: Part B**. v.14, n.1, p.40-47, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1855676>.

SOUZA, D. L.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; DE CALDAS PINTO, M. do S. As abelhas como agentes polinizadores. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 8, n. 3, p. 1-7, 2007. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63613302010>. Acesso em: 15 de agosto de 2022.

TOLEDO-HERNÁNDEZ, E. *et al.* The stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini): a review of the current threats to their survival. **Apidologie**, v.53, n.8, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00913-w>.

VAN VEEN, J. W.; SOMMEIJER, M. J. Colony reproduction in *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponini). **Insectes Sociaux**, v.47 n.1. p.70-75. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1007/s000400050011>.

VÁZQUEZ, D. E. *et al.* Sleep in honey bees is affected by the herbicide glyphosate. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, pág. 1-8, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67477-6>.

VÁZQUEZ, D.E.; LATORRE-ESTIVALIS, J.M.; ONS, S.; FARINA, W.M. Chronic exposure to glyphosate induces transcriptional changes in honey bee larva: A toxic genomic study. **Environmental Pollution**. v.261, 2020b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114148>.

VENTURIERI, G. C. Contribuições para a criação racional de meliponíneos ama zônicos. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 26 p. il. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 330). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/409880/contribuicoes-para-a-criacao-racional-de-meliponineos-ama-zonicos>. Acesso em: 20 de agosto de 2022.

VENTURIERI, G. C.; LEON, F. A. Biodiversidade de Abelhas na Amazônia: os Meliponíneos e seu Uso na Polinização de Culturas Agrícolas. III Semana dos Polinizadores: palestras e resumos, v. 26, 2012. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/270880751\\_Biodiversidade\\_de\\_Abelhas\\_na\\_Amazonia\\_os\\_Meliponineos\\_e\\_seu\\_Uso\\_na\\_Polinizacao\\_de\\_Culturas\\_Agricolas](https://www.researchgate.net/publication/270880751_Biodiversidade_de_Abelhas_na_Amazonia_os_Meliponineos_e_seu_Uso_na_Polinizacao_de_Culturas_Agricolas). Acesso em: 15 de agosto de 2022.

VIANA, B. F. *et al.* Stingless bees further improve apple pollination and production. **Journal of Pollination Ecology**, v. 14, n. 25, p. 261–269, 2014. DOI: <https://doi.org/10.26786/1920-7603>.

VIEIRA, F.R.; ANDRADE, D.C.; RIBEIRO, F.L. A polinização por abelhas sob a

perspectiva da Abordagem de Serviços Ecossistêmicos (ASE). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n.4, p. 544-560, 2021. DOI: <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.004.0042>

VINÍCIUS SILVA, R. et al. Importance of bees in pollination of *Solanum lycopersi cum L.* (Solanaceae) in open-field of the Southeast of Minas Gerais State, Brazil. **Hoehnea**, v. 44, n. 3, p. 349-360, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-07/2017>.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. **Espécies de abelhas sem ferrão de ocorrência no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Versátil Artes Gráficas. 2009.

WITTER, S.; NUNES-SILVA, P. **Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos)**. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, v. 1014, p. 144, 2014. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/201611/21110058-manual-para-boas-praticas-para-o-manejo-e-conservacao-de-abelhas-nativas-meliponineos.pdf>. Acesso em: 20 de agosto de 2022.

WOLOWSKI, M. et al. Relatório temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil. 1ª edição, São Carlos - SP: Editora Cubo, 2019. 184 p. DOI: <http://doi.org/10.4322/978-85-60064-83-0>. Acesso em: 01 set. 2022.