

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA ANDRADE CHAVES

**BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO PARA ANÁLISE DO
COMPORTAMENTO DE *Tetragonisca angustula* SOB INFLUÊNCIA
DE GLIFOSATO BioCarb®**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2020

MARIANA ANDRADE CHAVES

**BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO PARA ANÁLISE DO
COMPORTAMENTO DE *Tetragonisca angustula* SOB INFLUÊNCIA
DE GLIFOSATO BioCarb®**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Engenharia Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção de nota do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof^a. Dra. Débora Cristina de Souza

Coorientador: Prof^a. Dra. Elizabete Satsuki Sekine

CAMPO MOURÃO

2020



**TERMO DE APROVAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
INTITULADO**

**BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO PARA ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DE
Tetragonisca angustula SOB INFLUÊNCIA DE GLIFOSATO BioCarb®**

DA DISCENTE

MARIANA ANDRADE CHAVES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no dia 01 de Dezembro de 2020 ao Curso Superior de Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Campo Mourão. O(A) acadêmico foi arguido(a) pela Comissão Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a comissão considerou o trabalho aprovado.

Avaliador 1

Prof^a. Dr^a. Raquel de Oliveira Bueno

Avaliador 2

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Peron

Co-orientador(a)

Prof^a. Dr^a. Elizabete Satsuki Sekine

Orientador(a)

Prof^a. Dr^a. Débora Cristina de Souza

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde, força e ter me abençoado em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, Marilene e Luiz Fernando, pelo amor, apoio, confiança e por todo esforço realizado para que eu pudesse concluir a graduação.

A minha avó, Deize, por todo amor, apoio e suporte.

Ao meu irmão, Matheus que soube lidar com minha ausência por morar em outra cidade e sempre me recebeu com uma felicidade e amor inexplicável.

A Gabriela e Alana, pela amizade, parceria e por terem sido as melhores pessoas as quais eu tive o privilégio de compartilhar momentos inesquecíveis.

Aos meus amigos Flaviane Galvani, Júlio Tomé, Rafael Gon, Pedro Henrique, Vitor Cimetan e Bárbara Pasqualotto que estiveram comigo em todos esses anos de faculdade.

Aos meus amigos Gabriel Kataoka, Luciana Volpato e Gabriela Salviato que, mesmo longe, estiveram sempre presentes.

A todos os professores que se dedicaram e compartilharam seus ensinamentos ao longo de todos esses anos.

Em especial, gostaria de agradecer as minhas orientadoras Débora e Elizabete, que com toda a paciência me auxiliaram durante as pesquisas, entenderam os meus medos e manias e com toda a dedicação me deixaram chegar até aqui.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte dessa etapa muito importante da minha vida.

RESUMO

Na agricultura brasileira a intoxicação de abelhas por agrotóxicos era relacionada exclusivamente à exposição letal e atualmente, a preocupação aumenta com as possíveis consequências dos efeitos subletais que podem afetar o comportamento, o desenvolvimento e o sistema imunológico. Este trabalho foi desenvolvido para avaliar a toxicidade do herbicida glifosato sobre o comportamento de abelhas operárias de *Tetragonisca angustula*. Foram realizados bioensaios de sobrevivência mediante exposição por ingestão, em diferentes concentrações encontradas na literatura. E verificou-se as interações entre abelhas tratadas com herbicida e não tratadas, para avaliar antenações e trofalaxias. Nos bioensaios, o decaimento da sobrevivência foi explicado através do tempo de exposição, com aumento de significância em relação as 48 horas ($p < 0,01$) para todas as concentrações. Variações entre as antenações foram encontradas significativamente no comportamento entre o tipo de interação NT-NT do grupo controle com a interação T-NT do grupo tratado com o herbicida ($p < 0.05$) e entre o primeiro e segundo tempo de observação, diminuiu significativa a quantidade das antenações ($p < 0.05$). Enquanto que, para as trofalaxes não houve variação significativa entre os dados obtidos. Os resultados sugerem que o herbicida glifosato é tóxico e causa impactos negativos no comportamento da população de *T. angustula*.

Palavras-chave: glifosato; toxicidade; Jataí.

ABSTRACT

In Brazilian agriculture, the intoxication of bees by pesticides was exclusively related to lethal exposure and currently, the concern is increasing with the possible consequences of sublethal effects that can affect behavior, development and the immune system. This work was developed to evaluate the toxicity of the herbicide glyphosate on the behavior of worker bees of *Tetragonisca angustula*. Survival bioassays were performed by exposure to ingestion, in different concentrations found in the literature. And it was verified the interactions between bees treated with herbicide and untreated, to evaluate antennations and trophallaxis. In the bioassays, the decay of survival was explained by the time of exposure, with an increase in significance in relation to 48 hours ($p < 0.01$) for all concentrations. Variations between the antennations were found significantly in the behavior between the type of NT-NT interaction of the control group with the T-NT interaction of the group treated with the herbicide ($p < 0.05$) and between the first and second observation times, significantly decreased the number of antennations ($p < 0.05$). While, for trophallaxis, there was no significant variation between the data obtained. The results suggest that the herbicide glyphosate remains to be said if it is and cause negative impacts on the behavior of the population of *T. angustula*.

Keywords: glyphosate; toxicity; Jataí.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	9
2.1 Objetivos Específicos.....	9
3 JUSTIFICATIVA.....	10
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
4.1 Importâncias Ecológica e Econômica da Polinização por Abelhas	11
4.2 <i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille, 1811) (Apidae: Meliponina).....	13
4.3 Utilização de Pesticidas e seu Impacto sobre as Abelhas	14
4.3.1 Herbicida Glifosato.....	15
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1 Área de Coleta.....	17
5.2 Amostragem de Abelhas	18
5.3 Determinação de Doses Subletais	19
5.4 Efeitos do Herbicida no Comportamento Social.....	21
5.5 Análise Estatística	23
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
7 CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30

INTRODUÇÃO

A alta produtividade agrícola no agronegócio brasileiro coloca o país entre as 10 maiores economias mundiais e é considerado o segundo país que mais exporta esses produtos. Considerando a necessidade de manter a produção, este setor utiliza massivamente sementes transgênicas e insumos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos. O Brasil continua na lista de países que mais consomem defensivos do mundo, devido a suas extensas áreas de cultivos, principalmente de soja, milho e cana-de-açúcar, que juntas somam mais de 82% do volume total de defensivos utilizados no país (PIGNATI et al, 2017).

Pesquisas atuais mostram que o composto glifosato é o herbicida mais utilizado no Brasil, e esse também é apontado como extremamente prejudicial às abelhas (ANVISA, 2019). Geralmente, a contaminação dos polinizadores por defensivos acontece durante as atividades de forrageamento que envolvem coleta e ingestão de recursos florais ou por fumigação através de substâncias pulverizadas (FRAZIER et al, 2015). A aplicação de defensivos agrícolas para controle de pragas e patógenos com alta toxicidade para polinizadores pode causar dois tipos de efeitos sobre eles: efeito letal com morte imediata e efeito subletal podendo ocasionar mudanças de comportamento (FREITAS e PINHEIRO, 2010). Entre os efeitos subletais destacam-se o aumento da agressividade, a letargia, desorientação durante o voo e há ainda, diversos tipos de má formação da cria (BRYDEN et al., 2013).

Além disso, os defensivos atuam como repelente e afetam diretamente na quantidade de visitas por polinizadores, podendo afetar indiretamente o desempenho de toda a colmeia, pois as abelhas se comportam de maneira coesa e se comunicam por um sistema complexo via antenação, e fazem trofalaxes, que são transferências horizontais de alimentos entre companheiros de ninho que podem promover imunização e contaminação (LEONHARDT et al, 2016).

Nos últimos 40 anos estudos vêm sendo realizados para demonstrar a contribuição na preservação do ambiente e reforçar o papel dos polinizadores na produção e diversificação de alimentos, em especial os serviços prestados por abelhas, que se destacam como os principais polinizadores na maioria dos ecossistemas mundiais (WOLOWSKI et al., 2019).. De acordo com Freitas e Bonfim (2017) até a década de 90, acreditava-se que a polinização do cajueiro era realizada

pelo vento, após vários estudos no Nordeste do Brasil foi constatado que as abelhas têm papel primordial na polinização desta cultura. A principal abelha polinizadora do morango em escala mundial é *Apis mellifera*, porém a espécie *Tetragonisca angustula*, que é uma espécie nativa, que pode ser domesticada demonstrou efetividade na polinização dos cultivares 'Oso Grande' e 'Sweet Charlie', além de reduzir o percentual de frutos deformados apresentou aumento de peso dos morangos (MALAGODI-BRAGA, 2018).

Nesse sentido, dada a importância da polinização para a produção agrícola e sua relação com o consumo de agrotóxicos, o objetivo deste trabalho é analisar a toxicidade e os efeitos do glifosato sob os indivíduos de abelhas sem ferrão da espécie *Tetragonisca angustula* e compreender se existem alterações em seus comportamentos de antenação e trofalaxia.

OBJETIVOS

Analisar as alterações no comportamento de antenações e trofalaxias de *Tetragonisca angustula* e quantificar a mortalidade após contato com Glifosato BioCarb® através de ensaios de toxicidade em ambiente controlado.

1.1 Objetivos Específicos

- Identificação das doses subletais do herbicida Glifosato BioCarb® nos indivíduos de *T. angustula* por meio do teste de ingestão;
- Realização do teste toxicológico com os indivíduos de *T. angustula* e o herbicida Glifosato BioCarb® para análise do comportamento após a contaminação;
- Quantificação da mortalidade e monitoramento da comunicação intraespecífica de *T. angustula*.

JUSTIFICATIVA

As abelhas são de particular interesse, pois representam o maior grupo de polinizadores e são responsáveis pela manutenção da biodiversidade dos ecossistemas, aumentando a variabilidade genética de diversas espécies florísticas e produtividade de diversas culturas. Em contrapartida, o uso desordenado de agrotóxicos, devido à alta produtividade do agronegócio brasileiro, tem provocado aumento na susceptibilidade das abelhas como a paralisia ou morte.

A falta de informações a respeito dos efeitos dos defensivos sobre os polinizadores da agricultura nacional pode constituir um dos principais obstáculos para os esforços atuais em busca do uso sustentável de polinizadores.

Por isso esse trabalho traz uma análise do comportamento da abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*), abelha sem ferrão amplamente distribuída nas regiões brasileiras, sob a influência do defensivo agrícola mais usado no Brasil, o glifosato. A fim de coletar dados que contribuam para novas pesquisas e políticas de segurança ambiental quanto ao uso descontrolado de agrotóxicos em lavouras e jardins, que diretamente e indiretamente contribuem para a contaminação do solo, alimento e polinizadores.

REVISÃO DE LITERATURA

1.2 Importâncias Ecológica e Econômica da Polinização por Abelhas

A partir da aprovação da Convenção da Diversidade Biológica em 1992, os organismos e agentes polinizadores foram reconhecidos por seus papéis fundamentais na manutenção da biodiversidade mundial tanto em culturas de importância agrícola como em áreas naturais (BARBIÉRI JÚNIOR, 2018). O processo de polinização é um dos fenômenos biológicos que garantem a segurança alimentar humana em nível global, sendo considerado um serviço ecossistêmico básico (MASCENA, 2011) e com alto valor agregado para a produtividade global, visto que contribui direta ou indiretamente para o bem-estar humano, representando mais de 200 bilhões de dólares anuais (POTTS et al., 2016).

Fundamentalmente, a polinização é uma interação ecológica e fornece muitos benefícios aos seres humanos, como a manutenção e a variabilidade genética em cerca de 75% das 240.000 espécies de angiospermas, garantindo a produção e diversificação de alimento (FREITAS e PINHEIRO, 2010; COSTANZA et al, 2017).

Os serviços ecossistêmicos da polinização foram valorados em US\$ 70 bilhões/ano para a econômica global no final do século passado (COSTANZA et al, 1997). No entanto, a Plataforma Intergovernamental sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos (IPBES) atualizou em 2016 através do Relatório de Avaliação sobre Polinizadores, Polinização e Produção de Alimentos, para um valor estimado entre US\$ 235 bilhões e US\$ 577 bilhões (WOLOWSKI et al., 2019). No Brasil, calcula-se que a polinização relacionada à produção agrícola tem um valor anual de US\$ 12 bilhões (GIANNINI et al, 2015). Considerando que o Brasil é um país com o modelo econômico baseado no agronegócio o impacto econômico da polinização torna-se ainda mais importante.

A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura em 2018, estimou que das 100 espécies de culturas que fornecem 90% dos alimentos do mundo, mais de 70 são polinizadas por abelhas. Por outro lado, a importância das abelhas vai muito além dos benefícios econômicos provenientes de seus produtos e subprodutos, como mel e própolis, elas participam efetivamente da reconstituição e conservação de florestas e remanescentes (SILVA e PAZ, 2012). As abelhas podem atuar como bioindicadoras da qualidade ambiental sinalizando principalmente os resíduos de defensivos agrícolas (PALAZUELOS BALLIVIÁN, 2008; MANGIÉRI

JÚNIOR, 2002). No entanto, sua existência está ameaçada, pois são sensíveis a distúrbios antrópicos e encontram-se em processo acelerado de desaparecimento provocado pela degradação e fragmentação de habitats e práticas agrícolas convencionais, como: gradagem, fogo no preparo do solo e uso excessivo de defensivos agrícolas (GOMES, 2017).

A conservação da relação mutualística entre plantas e polinizadores é benéfica e fundamental para os organismos e para a biodiversidade ambiental, pois garantem através do processo de polinização cruzada com a transferência de pólen entre plantas diferentes, maior variabilidade genética, resistência e melhoria da qualidade do fruto (BARÔNIO et al., 2016). O declínio na população desses polinizadores causa impactos negativos nos organismos com os quais interagem e conseqüentemente, no agronegócio (IMPERATRIZ-FONSECA e NUNES-SILVA, 2010; BERTOLI et al., 2019).

Esta influência sobre o agronegócio foi medida por Klein et al. (2007) que demonstrou que as 86 culturas globais mais importantes de 200 países dependem da polinização por animais, enquanto 28 não dependem. Dentre algumas culturas agrícolas cultivadas a campo e em ambiente protegido e suas relações com os polinizadores, podemos destacar o uso da espécie *Scaptotrigona mexicana* na polinização do abacateiro no México, Austrália e Israel. As espécies *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* são as mais utilizadas no Brasil para o cultivo de morangos em estufa e na produção de sementes de alfafa (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2005). Nos Estados Unidos, destacam-se as espécies *Megachile rotundata* e *Nomia melanderi* na polinização da alfafa e pesquisadores da Polônia, verificaram aumento na taxa de germinação e quantidade de sementes de cebola, a partir da introdução da abelha nativa *Osmia rufa* (WITTER et al., 2014).

Avaliando as interações entre polinizadores e culturas agrícolas no Brasil Giannini et al. (2014), demonstraram que dentre as 321 espécies identificadas, 250 foram consideradas polinizadoras, entre elas o grupo *Hymenoptera* representou 89% e destes 77% eram espécies da família *Apidae*. De acordo com a Plataforma Intergovernamental de Serviços Ecosistêmicos e Biodiversidade (IPBES) em relatório divulgado em 2016, as culturas dependentes de polinização (polinizadores em geral) contribuem com 35% do volume de produção mundial de alimentos. Quando não polinizados, os cultivos dependentes apenas de abelhas decrescem cerca de 40% a 100% na produção (maracujá, melancia, girassol); dentre os cultivos

beneficiados por abelhas, a taxa de perda de produção fica entre 10% a 40% (alface, café, laranja) e até mesmo os cultivos não dependentes de abelhas, possuem sua produção afetada em até 10% (abacaxi, arroz e feijão) (GIANNINI, 2015).

Resultados experimentais analisados por Quinalha (2016) indicam que há um efeito negativo do aumento da proporção de pólen da própria planta sobre o sucesso reprodutivo de *Jacaranda caroba*, em oposição ao efeito do aumento da proporção de pólen proveniente de outras plantas, evidenciando a importância da polinização cruzada nessa espécie. Outro estudo que retrata a importância da inserção de abelhas para melhoramento do cultivo, pode ser observado no uso de abelhas sociais nativas sem ferrão da tribo Meliponini, em morango cultivado em estufas obtiveram sucesso na produção utilizando Iraí (*Nannotrigona testaceicornis*) no Japão e Jataí (*Tetragonisca angustula*) em São Paulo, sendo que o morangueiro geralmente produz boa colheita em áreas abertas, mas não sob cultivo fechado, devido à ausência de polinizadores (WITTER et al., 2014).

1.3 *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (Apidae: Meliponina)

Tetragonisca angustula são abelhas sem ferrão de pequeno porte, conhecidas popularmente como Jataí, com coloração amarelo-dourada e medindo cerca de 4-5 mm. Estruturalmente é uma abelha com corpo pequeno e delgado, possui comportamento extremamente eussocial (SANTIAGO, 2013). As distâncias de forrageamento para abelhas sem ferrão de pequeno porte, como a *T. angustula*, têm sido estimadas entre 621 a 951 m, o que é relativamente curto comparado com abelhas maiores, como *Melipona scutellaris* Latreille (1811), que alcançam voos maiores do que 2 km (ARAUJO et al., 2004).

A colônia da Jataí pode conter até 10.000 indivíduos distribuídos em: uma rainha que realiza a postura dos ovos chegando a 50 ovos por dia, zangões que realizam a fecundação da rainha (apenas um zangão faz a fecundação da rainha) e operárias que realizam as demais atividades da colônia. A Jataí é a única espécie que divide as operárias guardas (seguranças) em dois tipos: operárias internas, responsáveis pela segurança dentro da colônia e operárias externas, que ficando pairando sobre a entrada (MONTENEGRO, 2018).

A distribuição geográfica desta espécie é ampla, ocorrendo naturalmente do Sul do Brasil até o México (CAMARGO & PEDRO, 2013), exceto na Cordilheira dos

Andes, na caatinga brasileira e algumas regiões da Amazônia (OLIVEIRA et al, 2004). É uma das abelhas mais conhecidas no Estado do Paraná, tendo como característica o ninho e a entrada em formato de tubo de cerume (UMADA, 2014).

Entre as espécies nativas do Brasil é a mais adaptável em relação ao hábito de nidificação, podendo ser encontrada nas cidades, florestas, capoeiras e cerrados. Fazem seus ninhos em ocos de árvores, ninhos abandonados de pássaros, principalmente de João-de-barro, mas podem ser encontrados também em buracos de alvenaria, moirões de cerca ou paredões de pedra (NOGUEIRA-NETO, 1997; SANTIAGO, 2013). Estas abelhas não são agressivas, o que contribui para seu manejo comercial, são consideradas as abelhas mais limpas, tanto no que diz respeito ao alimento consumido, quanto na construção do ninho e organização da separação do pólen e as reservas alimentares de mel, utilizam potes de cerume para isto, que são localizados externamente a área de cria (LOPES, 2015).

Os meliponíneos são considerados importantes polinizadores de diversas espécies de plantas nativas e cultivadas (IMPERATRIZ-FONSECA, 2002; SILVA, 2012). Estudos apontam que a Jataí possui o maior potencial como agente polinizador de flores que não estão no hábito de *Apis mellifera* (NOGUEIRA-NETO, 1970). Morgado et al. (2011) estudando os hábitos alimentares de *Tetragonisca angustula* observaram que esta visitou várias fontes de pólen, sendo frequentes as famílias botânicas *Melastomataceae*, *Myrtaceae*, *Piperaceae*, *Caesalpinaceae*, *Meliaceae*, *Cyperaceae* e *Cecropiaceae*. Segundo Malagodi-Braga e Kleinert (2004), a Jataí foi eficiente na polinização do morango em estufas, produzindo frutos mais pesados, em maior quantidade e com desenvolvimento perfeito.

Segundo o Instituto Ambiental do Paraná – IAP, no estado do Paraná ocorrem cerca de 35 espécies de abelhas nativas sem ferrão, dessas apenas 10 espécies possuem capacidade de produção de mel. Destacam-se entre elas: Jataí (*Tetragonisca angustula*), Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata quadrifasciata*), Mirins (*Plebia* spp.) e Tubana (*Scaptotrigona bipunctata*) (PARANÁ, 2009; GRANDO, 2018). No entanto, pouco se tem sobre as melhores práticas de manejo para estas espécies tanto visando seu potencial comercial como a conservação ambiental.

1.4 Utilização de Pesticidas e seu Impacto sobre as Abelhas

No final de 2019 foi divulgado o Censo Agropecuário 2017, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) que apontou um crescimento

significativo do número de estabelecimentos agrícolas que utilizam agrotóxicos, em comparação com o Censo de 2006. A partir de 2006, constatou-se uma diferença nos padrões de utilização dos agrotóxicos, que passaram de um uso menos intensivo no controle de insetos e fungos, para o uso massivo de herbicidas na prática da capina química (VALADARES et al., 2020).

Segundo Tilman et al. (2001), os defensivos serão cada vez mais utilizados para o aumento da produtividade e melhoramento dos cultivos, a fim de acompanhar a taxa de crescimento da população e sua demanda por alimentos. Essa previsão sugere que os polinizadores serão cada vez mais expostos e afetados pelos defensivos, assim como evidenciado por Mullin e colaboradores (2010) que detectaram 98 pesticidas em amostras de pólen, com até 31 pesticidas diferentes encontrados em uma única amostra.

As abelhas podem ser expostas aos defensivos agrícolas durante sua aplicação no campo e contato com os resíduos através da ingestão de pólen e néctar contaminado (FAIRBROTHER et al., 2014). Essa exposição pode causar efeitos letais diminuindo a frequência de polinização em plantas dependentes desse processo (BRITTAİN e POTTS, 2011).

De acordo com os dados do Relatório de Comercialização de Agrotóxicos, publicados em 2019 pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o ingrediente ativo mais vendido no país foi o glifosato e seus sais. No Brasil, os estados com maiores concentrações médias de vendas de glifosato e seus sais são: Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo (LANDAU e MARTINS, 2020).

1.4.1 Herbicida Glifosato

O Glifosato é o ingrediente ativo (IA) mais utilizado no Brasil, com 173.150,75 toneladas comercializadas do IA em 2017 e é um herbicida não seletivo, sistêmico, pós emergente e apresenta elevada eficiência na eliminação de ervas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas (ANIVSA, 2018). O IBAMA classifica produtos a base de glifosato como Classe III – “Produto perigoso”, apesar de haverem formulações classificadas como Classe II – “Produto muito perigoso” (BRASIL-MAPA-ANVISA-IBAMA, sd).

O herbicida glifosato apresenta alta eficiência na eliminação de ervas daninhas e é amplamente utilizado desde a década de 70, por diversos produtores

em sistemas agrários e em áreas não cultivadas (RUEPPEL et al., 1977). No Brasil esse herbicida representa 30% do volume total de todos os pesticidas utilizados no país, sendo consumido anualmente 150 milhões de litros desse produto, sendo um dos pesticidas mais utilizados em todo o mundo (TONI et al., 2006; ZHANG et al., 2011).

Os produtores utilizam o glifosato em diversas culturas como, por exemplo, nos cultivos de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, soja, fumo, uva, soqueira em cana-de-açúcar, ameixa, banana, cacau, nectarina, pera, pêsego, seringueira, algodão e em pastagens, com a finalidade de controlar as plantas daninhas próximas às áreas dessas cultivares (DE AMARANTE JUNIOR e SANTOS, 2002).

O glifosato liga-se fortemente ao solo não sendo absorvido pelas raízes de plantas, mas é prontamente absorvido pelas folhas e outras partes dos vegetais. No solo, a sua meia-vida oscila de poucos dias a vários meses e na água, de 12 horas a 7 semanas (TESSARI, 2006). Após ou durante a aplicação do produto as abelhas podem se contaminar ao entrar em contato ou ao coletarem recursos como água e alimentos contaminados durante o forrageio (GOMES, 2017). Esse herbicida é muito solúvel em água e pode permanecer por um longo período nas culturas, após sua aplicação, e ser encontrado em áreas próximo ao cultivo (ZHANG et al., 2011), o que aumenta a exposição podendo causar efeitos subletais ainda pouco documentados na literatura (TOLEDO e GUILLÉN, 2014).

Apesar de ser reconhecido como um produto de baixa toxicidade há evidências de impacto pela utilização de glifosato no ambiente. Estudos que avaliam a toxicidade de herbicidas assim como seus efeitos subletais no comportamento de abelhas são recentes (THOMPSON et al., 2014).

Tais avaliações são importantes por contribuírem na compreensão do efeito dos herbicidas em abelhas sem ferrão, bem como auxiliarem no estabelecimento de medidas que reduzem a exposição de polinizadores a agrotóxicos.

MATERIAL E MÉTODOS

1.5 Área de Coleta

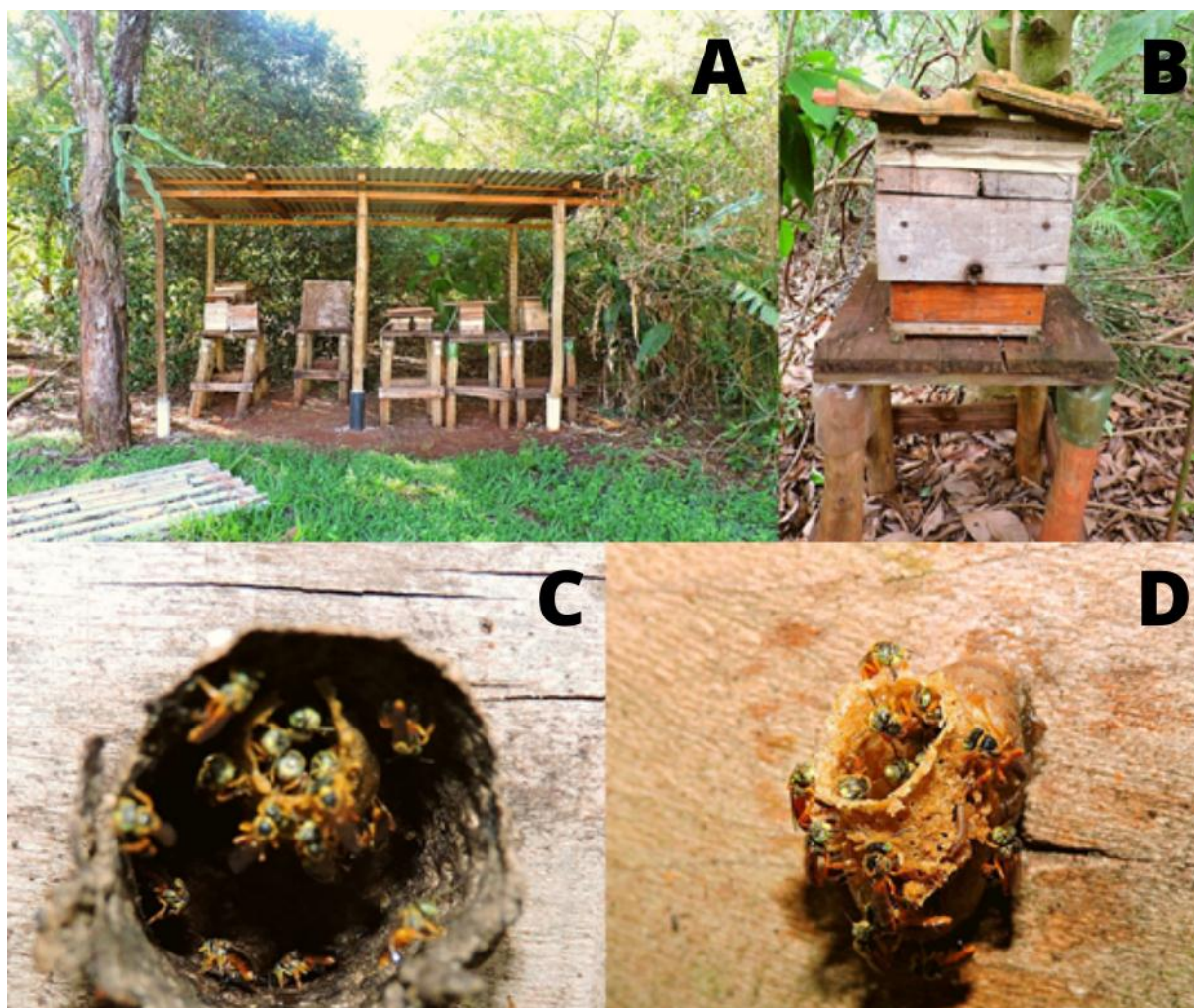
Os indivíduos de *Tetragonisca angustula* foram coletados no meliponário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão (Figura 1). O meliponário está instalado na entrada do bosque didático, que conta com diversidade florística e faz limite com culturas agrícolas próximas do campus (Figuras 1 e 2). Nesta área são encontradas algumas famílias botânicas interesse para a polinização: Anacardiaceae, Bignoniaceae, Myrtaceae e Rubiaceae.

Figura 1 – Mapa de localização do meliponário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão.



Fonte: Google Earth Pro® (2020).

Figura 2 – Meliponário (A), Caixa ninho (B) e entrada dos ninhos (C e D) das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* utilizados no bioensaio de toxicidade do herbicida Glifosato e localizados no meliponário da UTFPR-CM.



Fonte: Autoria própria (2019).

1.6 Amostragem de Abelhas

As coletas de dados foram realizadas entre os meses de setembro e outubro de 2020 e divididas em dois momentos, uma para a determinação das doses subletais de Glifosato e outra para a análise do comportamento de *T. angustula* no bioensaio de toxicidade. A amostragem dos indivíduos e a análise dos efeitos do herbicida Glifosato no comportamento das abelhas seguiu a metodologia adaptada de Boff et al (2018). Observou-se a maior movimentação das abelhas entre 07h e 10h e, por isso, a coleta foi realizada no período da manhã.

Para a determinação das doses subletais, em três colmeias foram apanhados 60 indivíduos de cada colmeia, utilizando-se copos coletores de 70 ml colocados na

entrada do ninho. Em cada coletor havia um máximo de 10 abelhas, a fim de evitar estresse e facilitar a observação inicial, assim, totalizando 180 abelhas distribuídas em 18 potes.

Seguindo o mesmo padrão de coleta, na segunda etapa deste trabalho, 108 novas abelhas foram capturadas em três colmeias para a análise do comportamento social. Foram divididos dois grupos com 54 indivíduos, entre controle e solução com concentrações de glifosato. Cada grupo ocupou 18 placas de Petri com três indivíduos cada.

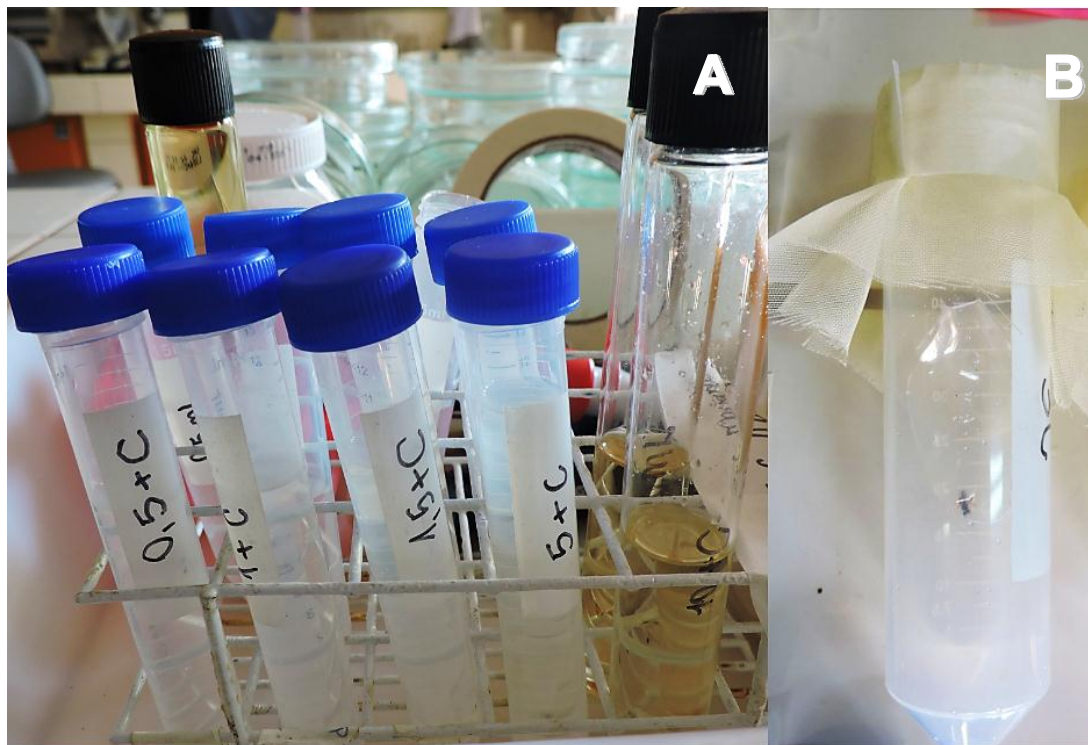
Os copos coletores foram levados ao Laboratório de Ecologia da UTFPR-CM e acondicionados em regime de luz natural e mantidos a temperatura controlada por refrigeração do ambiente de 25 °C.

1.7 Determinação das Doses Subletais de Glifosato

Para induzir o consumo do alimento oferecido às abelhas, 180 indivíduos foram armazenados individualmente em tubos Falcon (50 ml) com telas de voil que permitiram ventilação e privados de alimentação por um período de uma hora antes do início do experimento. Os indivíduos foram submetidos a uma sessão de inanição para evitar as chances de não ingestão da solução, que posteriormente foi aplicada no alimentador, e individualizados para diminuir a influência e estresse causados durante o procedimento (MODANESI, 2012).

Os valores de alimentação foram baseados no experimento de Mayack e Naug (2009), com a colocação de um recipiente com 15 µl de solução de sacarose a 50% (v/v) como controle ou a mesma solução de sacarose a 50% com a solução do herbicida glifosato (v/v) preparada em água destilada nas seguintes concentrações: 10 ng/abelha; 5 ng/abelha; 1.5 ng/abelha; 1.0 ng/abelha e 0.5 ng/abelha (Figura 3). Como trata-se de 5 diferentes concentrações e o controle, dez abelhas de cada colmeia receberam uma das soluções. Apenas as abelhas que consumiram todos os 15 µl foram utilizadas no experimento.

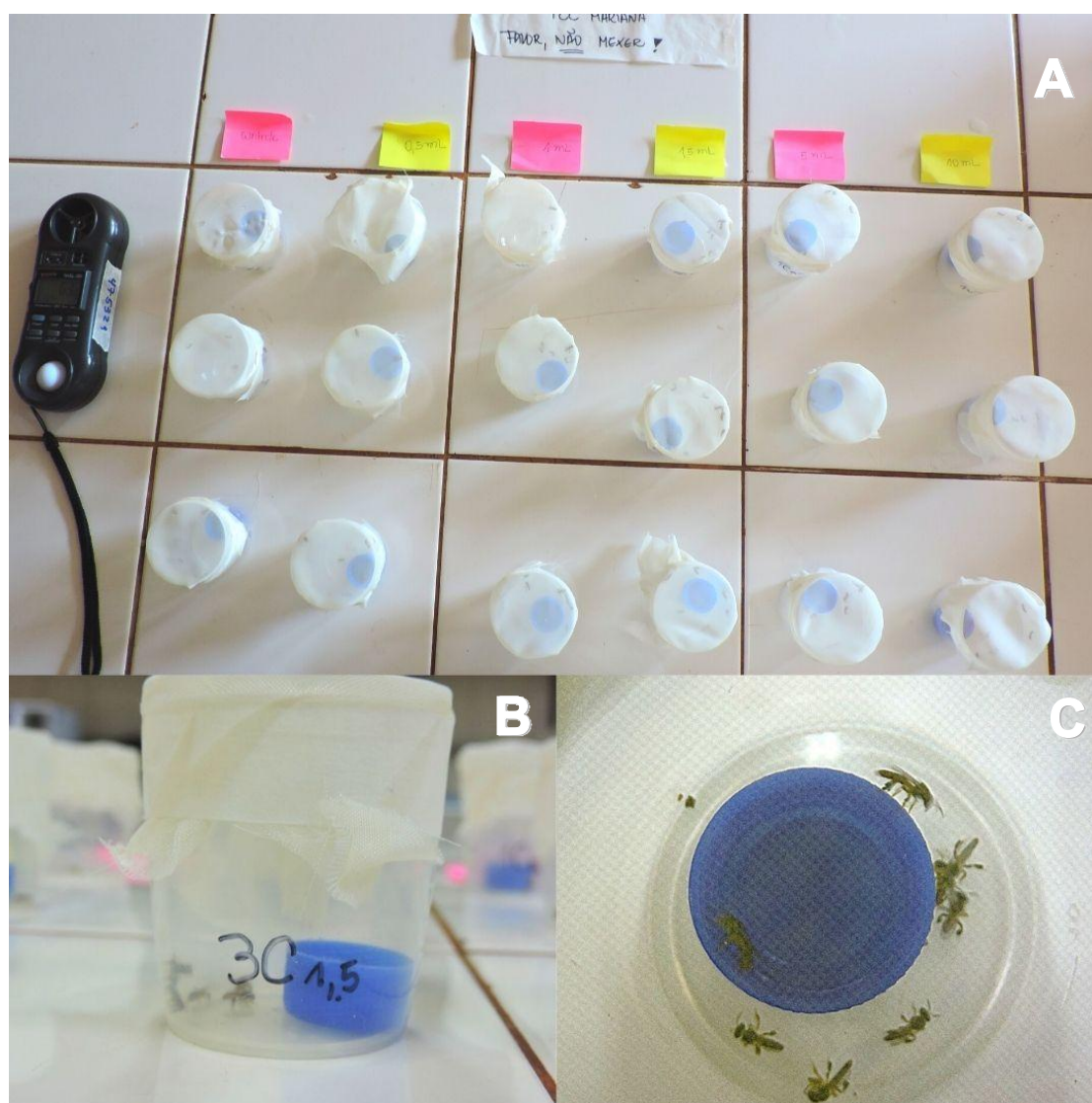
Figura 3 – Tubos de Falcon contendo as soluções de sacarose e as concentrações de glifosato a 0,5 ng/abelha; 1 ng/abelha; 1,5 ng/abelha; 5 ng/abelha e 10 ng/abelha (A) e modelo de recipiente criado com tubo de falcon e tela voil (B), para a determinação das doses subletais nas abelhas *Tetragonisca angustula*.



Fonte: Autoria própria (2019).

Representado na Figura 4, a montagem do teste foi composta por três copos coletores com 4 a 12 abelhas para cada tratamento. Os copos estavam com recipientes de solução de sacarose a 50%, fornecidos à vontade. O monitoramento durou dois dias (48hrs) e a cada 24 horas, as abelhas imóveis eram consideradas mortas e removidas com pinças.

Figura 4 – Montagem da bancada do experimento para análise da sobrevivência da *Tetragonisca angustula* após a ingestão de cinco concentrações mais controle do herbicida Glifosato (A), recipiente criado com tela voil para análise das doses subletais e vista dos indivíduos se alimentando (C).



Fonte: Autoria própria (2019).

1.8 Efeitos do Herbicida no Comportamento Social de *Tetragonisca angustula*

As análises dos efeitos do herbicida nas interações sociais (antenação e trofalaxia) foram realizadas entre três operárias de cada colmeia. Primeiramente, um

indivíduo de cada colmeia foi alimentado com 15 µl da solução sacarose com Glifosato (v/v) ou apenas solução de sacarose. A concentração de glifosato foi estabelecida pelo experimento de subletalidade. As outras duas abelhas foram mantidas isoladas e sem alimentação.

Após a alimentação as abelhas receberam uma marcação na parte dorsal do mesossoma, com uma tinta atóxica de cor rosa, para facilitar sua identificação durante a observação de comportamento. Em seguida, as três operárias (uma alimentada e duas famintas) foram reunidas em uma placa de Petri contendo um alimentador metálico sobre papel filtro com 1000 µl da solução de sacarose.

As placas foram observadas por 30 minutos e com intervalo de 10 minutos de observação eram anotados o tipo e a quantidade de interações (Figura 5). Os tipos de interação são:

Antenações - duas abelhas frente a frente com suas antenas se tocando;

Trofalaxias - duas abelhas frente a frente com suas línguas se tocando.

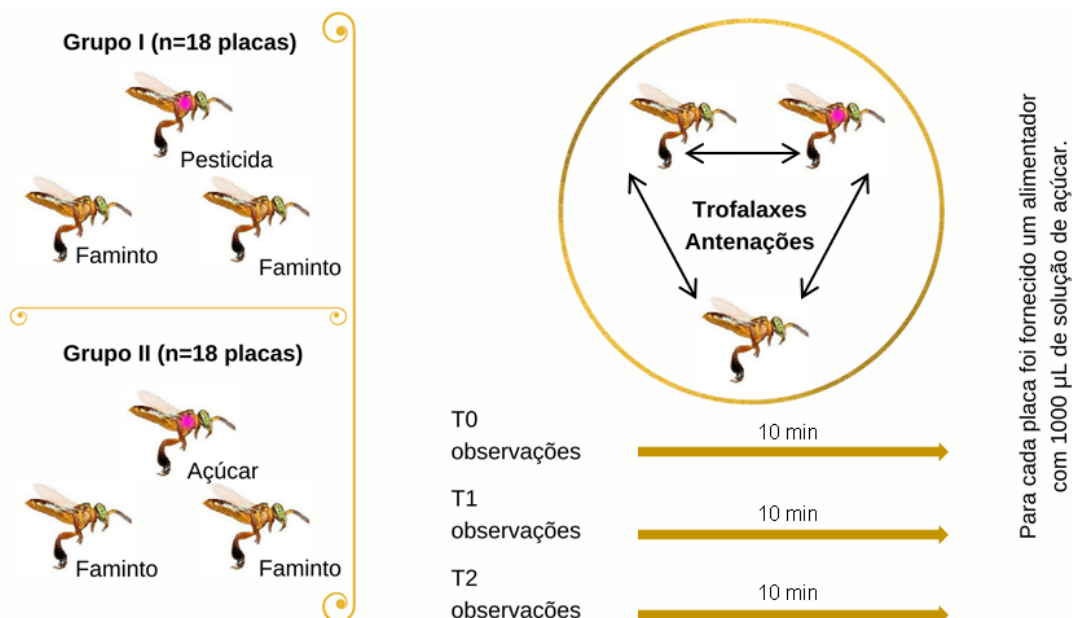
Para explicar possíveis diferenças na interação devido aos tratamentos, o número de antenações e trofalaxias foi contado a partir de dois tipos de interações:

T – NT = abelhas tratadas e não tratadas;

NT – NT = abelhas não tratadas e não tratadas.

Figura 5 - Esquema da configuração experimental, do teste de efeito do pesticida nas interações sociais (antenação e trofalaxia) de *Tetragonisca angustula*. A abelha marcada (rosa) corresponde à abelha alimentada com pesticida ou solução de açúcar.

Contagem do número de comportamentos em interações não tratadas-tratadas e não tratadas-não tratadas



Fonte: Autoria própria (2019) baseada na figura de Boff et al. (2018). (A figura da abelha foi modificada a partir do link: <https://images.app.goo.gl/ioWr1HyxZC9kdxQU8>).

1.9 Análise Estatística

O experimento de dose subletal foi analisado por meio de Análise de Variância considerando as variáveis, dose e tempo de morte como fatores independentes e as placas foram consideradas repetições, pois receberam o mesmo tratamento. As amostras apresentaram distribuição normal e foram testadas pelo teste de ANOVA com dois critérios, seguido do teste de médias Tukey.

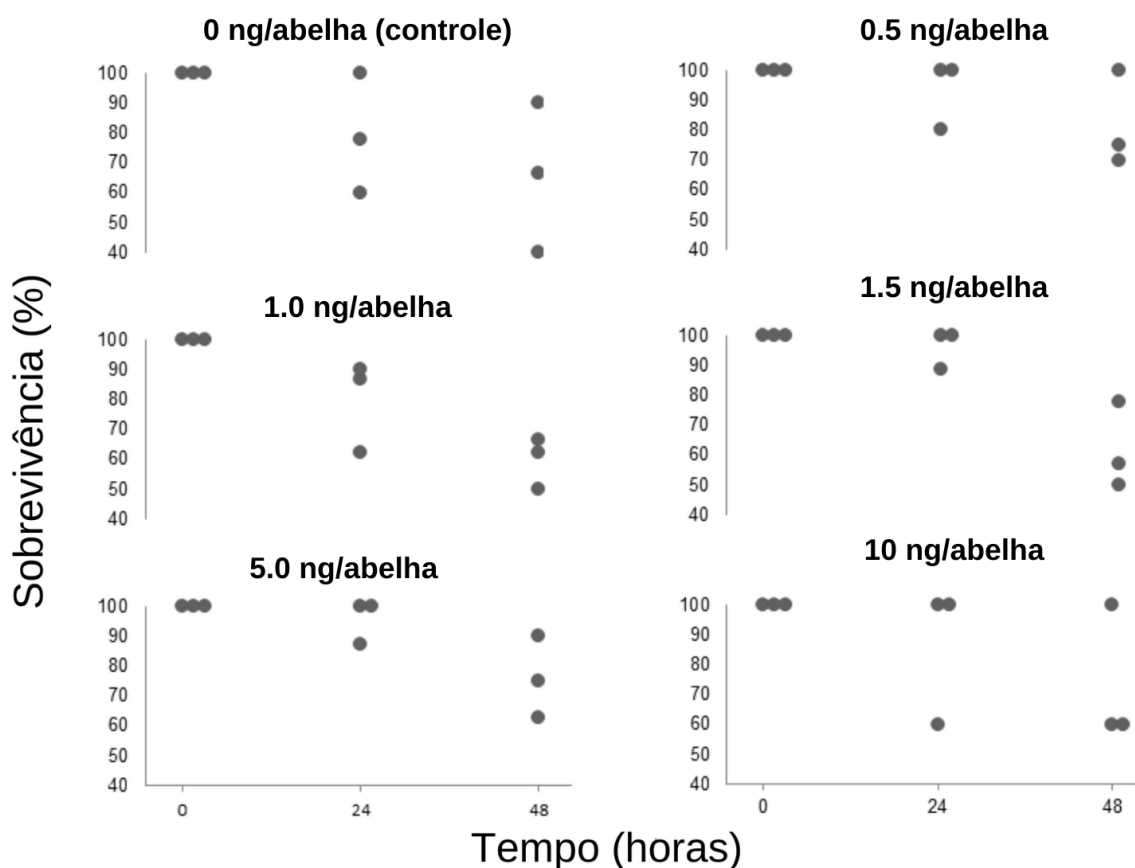
Para analisar o experimento de comportamento social das abelhas foi utilizada a análise de variância, onde tempo e interação foram variáveis respostas e tratamento a variável explicativa. Os testes de ANOVA: dois critérios foram utilizados para comparar dados entre tratamentos e interações e o Teste de Tukey foi realizado para contabilizar o efeito do tempo dentro de cada tratamento. Todas as análises estatísticas foram realizadas pelos softwares BioEstat 5.3 (AYRES, et al., 2007) e Microsoft Excel® (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência das abelhas variou independentemente da concentração de herbicida (dose) ($F = 1.9139$, $p = 0.0524$), no entanto, o tempo ($F = 32.7871$; $p < 0.0001$) explicou a letalidade. Entre as médias, temos o tempo inicial do estudo e as primeiras 24 horas, com $p < 0.05$; e maior significância ($p < 0.01$) entre as médias dos horários de 0 – 48 horas e 24 – 48 horas.

A Figura 6 demonstra ao longo das 48 horas do experimento, o decaimento da sobrevivência das abelhas em porcentagem, sendo que todas as concentrações testadas foram consideradas subletais, pois as taxas de sobrevivência não ficaram abaixo de 50% de mortalidade. Portanto, a concentração de 10 ng/abelha de glifosato foi utilizada para observar os efeitos no comportamento social de *T. angustula*. Silva (2017) trabalhou com a espécie *Melipona quadrifasciata*, que também pertence à Família Apidae, e descobriu que a mortalidade causada pela ingestão do pesticida acetamiprido não diferiu significativamente entre as 48 horas do experimento ($p > 0.05$, para todas as comparações). Outro fator a se considerar de acordo com Carvalho et al (2011), é o volume corporal, quanto maior o volume corporal menor é a área específica e conseqüentemente, há uma menor exposição aos defensivos agrícolas.

Figura 6 - Porcentagem de indivíduos de *Tetragonisca angustula* que sobreviveram por 48 h após a ingestão do pesticida Glifosato em diferentes concentrações. Cada bola no gráfico representa o grupo de 10 abelhas iniciais por colmeia.



Fonte: Autoria própria (2019).

As antenações foram mais frequentes do que as trofalaxias (Tabela 1), geralmente as trocas de alimentos através da trofalaxe ocorrem após as antenações.

O número de interações (nº de antenações e trofalaxias trocadas) diferiu entre o grupo tratado com pesticida e o grupo não tratado. O herbicida causou uma redução no número de interações sociais observadas e mudou a proporção de comunicação ao alterar o número de antenações e eventos de trofalaxia trocados entre as operárias de *Tetragonisca angustula*.

Tabela 1 – Número total de interações trocadas entre as abelhas tratadas (T) e não tratadas (NT) de *T. Angustula* durante três períodos de 10 min dentro de uma hora de observação.

Interações de tratamentos	Antenação				Trolaxia			
	T ₀	T ₁	T ₂	Total	T ₀	T ₁	T ₂	Total
Controle (açúcar)								
NT – T	22	18	21	61	3	1	4	8
NT – NT	33	20	24	77	4	0	1	5
Pesticida								
NT – T	15	10	19	44	4	5	2	11
NT – NT	24	19	24	67	6	4	5	15

Fonte: Autoria própria (2019).

A interação das abelhas tratadas com herbicidas foi menor do que a das abelhas tratadas com açúcar. Em média, as abelhas tratadas com açúcar apresentaram maior frequência de antenações, sem alterações significativas ao longo do tempo. Porém, a frequência de ocorrência das trolaxias não foi afetada pelo defensivo, mas varia ao longo do tempo, sendo maior na primeira hora para as abelhas não tratadas e tratadas, de acordo com o teste.

As amostras de antenação não foram consideradas de distribuição normal pelo teste de ANOVA de dois critérios, pois os valores encontrados para o tratamento das interações NT-NT e T-NT entre o grupo controle e o que recebeu glifosato, foram de $F = 7.0738$ e $p = 0.0220$. Também houve diferença entre as rodadas de tempo (blocos), com $F = 5.5662$ e $p = 0.0430$. Diante disso, o Teste de Tukey foi realizado para analisar se havia variação dentro do experimento. Essas variações foram encontradas significativamente no comportamento entre o tipo de interação NT-NT do grupo controle com a interação T-NT do grupo tratado com o herbicida ($p < 0.05$) e com diferenças entre as repetições, os 10 minutos e 20 minutos ($p < 0.05$). Diferentemente, os dados de trolaxia foram considerados sem diferença significativa entre eles, pois as interações NT-NT e T-NT tiveram $F = 2.7037$ e $p = 0.1386$ e os períodos de contagem com $F = 1.444$ e $p = 0.3078$.

Por ser um teste controlado em laboratório, a análise sobre esses dados apresenta uma visão limitada sobre o comportamento social das abelhas.

Entretanto, podemos afirmar que há diferença de 84,34% entre a quantidade de antenações (249 interações) e trofalaxias (39 interações).

Pode-se notar que o número total das antenações (NT-NT e T-NT) do grupo controle é aproximadamente 20% maior quando comparado com o total de antenações do grupo tratado, enquanto o total das trofalaxes do grupo tratado com glifosato é exatamente o dobro do total de trofalaxes do grupo controle, demonstrando que o uso do herbicida não afetou negativamente este comportamento social nessas abelhas. Corroborando com os resultados obtidos neste trabalho, Boff et al (2018) analisa em seu estudo com a abelha *Melipona quadrifasciata*, que a frequência de antenação é significativamente maior para abelhas do grupo controle ($F=5.432$, $p=0.022$) sem variação significativa do tempo ($F=0.831$, $p=0.589$). Entretanto, a frequência de trofalaxia foi significativamente afetada pelo agrotóxico ($F=8.103$, $p=0.005$), com variação do tempo ($F=3.767$, $p=0.007$). Gomes (2017) relacionou a exposição de abelhas *Melipona capixaba* e *Apis mellifera* por ingestão de glifosato com a alteração significativa ($p<0.001$) do comportamento de capacidade de voo das abelhas.

Atualmente, a literatura traz diferentes espécies, com agrotóxicos diversos e análises de comportamento: os pesticidas reduziram o número de interações entre ambos os grupos, afetando aspectos importantes da sociabilidade nas abelhas, como a regulação do néctar individual (DE BRUIJN E SOMMEIJER, 1997); defesa da colônia (SHACKLETON et al, 2015) e manutenção da homeostasia da colônia, com controle de variáveis como a termorregulação colonial, que também ocorrem por mecanismos comportamentais, como por exemplo, a escolha do local de nidificação (LOLI, 2008).

Os resultados mostram que 10 ng/abelha de glifosato podem ter causado relativa toxicidade à abelha *T. angustula* após uma hora da ingestão. No entanto, sabe-se que o herbicida pode induzir apenas temporariamente um efeito sobre a quantidade de interações sociais. Em condições naturais as abelhas podem estar sujeitas a defensivos em maiores períodos de exposição e que os efeitos na comunicação social das abelhas poderiam ser ainda maiores no campo, com exposição crônica acabaria afetando drasticamente o comportamento (BOFF et al, 2018).

Os grupos de operárias que foram privadas de alimentos interagiram com maior frequência com as abelhas alimentadas, independente se havia ou não

contaminação. Portanto, os indivíduos de *T. angustula* alimentados agiram como doadores de alimentos para os outros dois indivíduos que não comeram depois de serem capturados. Contrera et al (2010), em estudo com *Melipona quadrifasciata* ao contrário do observado neste experimento, as abelhas famintas participam com menos frequência da transferência de alimentos por meio de trofalaxias entre indivíduos contaminados, pois possuem capacidade para identificar indivíduos saudáveis (WRIGHT et al, 2012). Segundo Rondeau et al (2012), trofalaxes podem ajudar a diluir a toxicidade dos defensivos agrícolas adicionando novos líquidos das abelhas doadoras e contaminar indivíduos saudáveis que não foram expostos a defensivos.

É importante considerar que estudos mais específicos devem ser elaborados, para analisar o modo de ação dos herbicidas a base de glifosato em abelhas sem ferrão. No entanto, as análises de toxicidade trabalhadas neste estudo, demonstram que há relação entre as concentrações e o tempo de exposição a agrotóxicos, afetando a frequência de antenações e trofalaxes dos indivíduos de *T. angustula*.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que a sobrevivência das abelhas varia independentemente das concentrações do herbicida glifosato e significativamente em relação ao tempo de exposição, mostrando diferentes possibilidades de relações desse herbicida com impactos negativos para a população de *Tetragonisca angustula*.

Como nenhuma concentração matou mais de 50% dos indivíduos, a dose subletal de glifosato a 10 ng/abelha foi considerada tóxica com decaimento da sobrevivência ao longo das 48 hrs do experimento.

Os bioensaios de toxicidade comportamental apontaram que as antenações são mais frequentes do que as trofalaxes e variam significativamente entre a interação não tratado – não tratado do grupo que recebeu apenas solução de sacarose e a interação tratado – não tratado, do grupo contaminado com glifosato.

Como este trabalho foi realizado em ambiente controlado, entende-se que mais testes devem ser executados, tanto a nível celular como observações do comportamento em campo, para explicar de forma mais completa as variações comportamentais causadas pelos agrotóxicos.

Portanto, os resultados apresentados reforçam que o impacto do glifosato em abelhas sem ferrão não podem ser negligenciados e devem ter diretrizes específicas e estratégias de mitigação quanto ao uso desses defensivos em prol da conservação desta espécie.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA)**. Nota Técnica Preliminar nº 23/2018 sobre as conclusões da reavaliação do Glifosato. 2019. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117833/Nota+t%C3%A9cnica+23+de+2018+-+Glifosato/faac89d6-d8b6-4d8c-8460-90889819aaf7>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- ARAUJO, E. D. et al. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of flight range and possible ecological implications. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 3b, p. 563-568, 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842004000400003&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 25 out. 2020.
- AYRES, M., AYRES Jr, M., AYRES, D. L., SANTOS, A. A. S. **Bioestat 5.0 aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: IDSM, 2007.364p.
- BARBIÉRI JUNIOR, C. **Caracterização da meliponicultura e do perfil do meliponicultor no estado de São Paulo: ameaças e estratégias de conservação de abelhas sem ferrão**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, 2018, 102 p.
- BARÔNIO, G. J.; MACIEL, A. A.; OLIVEIRA, A. C.; KOBAL, R. O. A. C.; MEIRELES, D. A. L.; BRITO, V. L. G.; RECH, A. R. Plantas, polinizadores e algumas articulações da biologia da polinização com a teoria ecológica. **Rodriguésia**, v.67, n.2, p. 275-293, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602016000200002&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 nov. 2020.
- BERTOLI, J. F.; GONÇALVES, C. C.; GONÇALVES, R. B. & CARRIJO, T. F. **Cartilha Agroecológica das Abelhas Solitárias**. Santo André – SP, Universidade Federal do ABC, Brasil, 2019. Disponível em: <https://docs.ufpr.br/~rbg/assets/files/2019%20Bertoli%20et%20al%20CARTILHA.pdf>. Acesso em: 03 nov. 2020.
- BOFF, Samuel et al. Changes in social behavior are induced by pesticide ingestion in a Neotropical stingless bee. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 164, p. 548-553, 2018.
- BRITAIN, C.; POTTS, S.G. 2011. The potential impacts of insecticides on the lifehistory traits of bees and the consequences for pollination. **Basic and Applied Ecology**, 12, 321–331.
- BRUIJN, L. L. M. & SOMMEJER, M. J. 1997. Colony foraging in different species of stingless bees (Apidae, Meliponini) and the regulation of individual nectar foraging. **Insectes Sociaux** 44:35-47.

BRYDEN, J.; RICHARD J.; GILL, R.J.; MITTON, R.A.A.; RAINE, N.E.; JANSEN, V.A.A. Chronic sublethal stress causes bee colony failure. **Ecology Letters**. 2013. 1463–1469p.

CAMARGO, J. M. F & PEDRO, S. R. M. 2013. *Tetragonisca angustula*. In: Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** – versão online. Disponível em: <http://moure.cria.org.br/catalogue?id=34851>. Acesso em: 15 nov. 2020.

CONTRERA, F.A., IMPERATRIZ-FONSECA, V.L., KOEDAM, D., 2010. Trophallaxis and reproductive conflicts in social bees. **Insect. Soc.** 57 (2), 125–132. (<http://dx.doi.org/10.1007/s00040-009-0058-5>).

COSTANZA, R.; ARGET, R.; DE GROOT, R; FARBERK, S.; GRASSO, M.; HANNON, B.; LIMBURG, K.; NAEEM, S.; O'NEILL, R.V., PARUELO, J.; RASKIN, R.G.; SUTTONK, P.; BELT M.V. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Nature** 387: 253- 260.

COSTANZA, R., DE GROOT, R., BRAAT, L., KUBISZEWSKI, I., FIORAMONTI, L., SUTTON, P., FARBER S., GRASSO, M. Twenty years of ecosystem services: How far have we come and how far do we still need to go?. **Ecosystem Services**, v. 28, p.1–16, 2017.

DE AMARANTE JUNIOR, O.P.; SANTOS, T.C.R. 2002 Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quimica Nova**, p.589-593, 2002.

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

FRAZIER, M.T. ; MULLIN, C.A.; FRAZIER, J.L. ; ASHCRAFT, S.A., et al., 2015. Assessing honey bee (Hymenoptera: Apidae) foraging populations and the potential impact of pesticides on eight US crops. **Journal of economic entomology**, v.108, 2. 5, p. 2141-2152, 2015.

FREITAS, B.M.; BOMFIM, I.G.A. A necessidade de uma convivência harmônica da agricultura com os polinizadores. **In: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE)**. Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar. Brasília, 2017.

FREITAS, B. M.; PEREIRA, J. O. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture The international response. **In Solitary bees : Conservation, rearing and management pollination**. Fortaleza : Imprensa Universitária, 2004.p.42-58.

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, p. 282- 298, 2010.

GIANNINI, T.C. O Valor Econômico do Serviço de Polinização em alguns Cultivos Brasileiros. *In*: A.B.E.L.H.A (org.). **Agricultura e polinizadores**. São Paulo: Associação Brasileira de Estudo das Abelhas, 2015. Disponível em: <https://www.abelha.org.br/publicacoes/ebooks/Agricultura-e-Polinizacao.pdf>. Acesso em: 08 nov. 2020.

GIANNINI, T.C.; BOFF, S.; CORDEIRO, G.D.; CARTOLANO Jr, E.A.; VEIGA, E.A.K.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SARAIVA, A.M. 2014. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. **Apidologie**, v. 46, n. 2, p. 209–223, 2015.

GOMES, I. N. **Bioensaios em laboratório indicam efeitos deletérios de agrotóxicos sobre as abelhas *Melipona capixaba* e *Apis mellifera***. 2017. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, 2017.

GRANDO, R. C. **Caracterização físico-química e perfil sensorial de méis de abelhas nativas, sem ferrão, oriundas da região centro-sul do estado do Paraná, Brasil**. 2018. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/2158>. Acesso em: 25 out. 2020.

IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lucia; CANHOS, Dora Ann Lange; ALVES, Denise de Araujo; SARAIVA, Antonio Mauro. **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. [S.l: s.n.], 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. 2010. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica**, v.10, n. 4, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/html/1991/199118978008/>. Acesso em: 10 jun. 2019.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012. 2009. Disponível em: <http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol32No499630-RV08089.pdf>. Acesso em: 15/11/2019.

DE AMARANTE JUNIOR, O.P.; SANTOS, T.C.R. 2002 Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, p.589-593, 2002.

KLEIN, A. M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFANDEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. 2007. **Importance of pollinators in changing landscapes for world crops**. *Proc. R. Soc. B.* 274, 303-313.

LANDAU, EC; SILVA, GA da; MOURA, L.; HIRSCH, A.; GUIMARAES, DP (Ed.). Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: sistemas agrícolas, paisagem natural e análise integrada do espaço rural. Brasília, DF: **Embrapa**, 2020. v. 4, cap. 52, p. 1823-1901. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1122551>. Acesso em: 16 out. 2020.

LEONHARDT, S.D., MENZEL, F., NEHRING, V., SCHMITT, T., 2016. Ecology and evolution of communication in social insects. **Cell**, v.164, n. 6, p. 1277–1287, 2016.

LIMA, S. K.; GALIZA, M.; VALADARES, A.; ALVES, F. **Texto para Discussão (TD) 2538 : Produção e consumo de produtos orgânicos no mundo e no Brasil**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2019. Disponível em: <http://repositorio.ipea.gov.br/handle/11058/9678>. Acesso em: 03 nov. 2020.

LOLI, D. 2008. Termorregulação colonial e energética individual em abelhas sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo – SP. 229p.

LOPES, A. E. P. **Caracterização físico-química do mel da abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*)**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/5341>. Acesso em: 29 out. 2020.

MALAGODI-BRAGA, K. S. (Brasil). **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. A polinização como fator de produção na cultura do morango**. 2. Ed. Jaguariúna, São Paulo, 2018.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P. Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? **Australian Journal of Agricultural Research**. 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Katia_Braga/publication/244988943_Could_Tetragonisca_angustula_Latreille_Apinae_Meliponini_be_effective_as_strawberry_pollinator_in_greenhouses/links/57850c3a08aec5c2e4e1128b/Could-Tetragonisca-angustula-Latreille-Apinae-Meliponini-be-effective-as-strawberry-pollinator-in-greenhouses.pdf. Acesso em: 25 out. 2020.

MANGIÉRI JUNIOR, R. Bioindicadores de impacto em sistemas orgânicos. *In*: HAMMES, V.S. (Org.). **Educação ambiental para o desenvolvimento sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. v.4. p.100-101.

MASCENA, V. M. **Abelhas visitantes florais, potenciais polinizadoras do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) em cultivo agroecológico**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Fortaleza-CE, 2011. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/19001>. Acesso em: 25 out. 2020.

MAYACK, C., NAUG, D., Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. **Journal of invertebrate pathology**, v. 100, n. 3, p. 185-188, 2009.

MODANESI, M. S. **Produção de apitoxina por abelhas *Apis mellifera* L. e seu efeito na expressão de genes relacionados ao estresse**. Dissertação. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2012. 34p.

MONTENEGRO HR. **Comparação das características físico-químicas e antioxidantes do mel de *Tetragonisca Angustula* (Latreille, 1811) coletado nos estados do Paraná e Rondônia.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – UTFPR, Campo Mourão, 2018.

MORGADO, L. N. et al. Padrão polínico utilizado por *Tetragonisca angustula* Latreille (Apidae: Meliponina). **Acta Botanica Brasilica** V. 25, n 4, p. 932-934. 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062011000400021&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 nov. 2020.

MULLIN, C.A.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.L.; ASHCRAFT, S.; SIMONDS, R.; ENGELSDORP, D.V.; PETTIS, J.S. 2010. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. **PloS one**, v. 5, n. 3, p. e9754, 2010.

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

_____. **ONU promove evento em Brasília para lembrar importância das abelhas na produção de alimentos.** Publicado em 24 abr. 2018. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/onu-promove-evento-em-brasilia-para-lembrar-importancia-das-abelhas-na-producao-de-alimentos/>. Acesso em: 24 jun. 2019.

OLIVEIRA, Rosana C. de O.; NUNES, Francis de M. F.; CAMPOS, Ana P. S.; VASCONCELOS, Soraya M. de; ROUBIK, David; GOULART, Luiz R.; KERR, Warwick E. Genetic divergence in *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Meliponinae, Trigonini) based on rapd markers. **Genetic and Molecular Biology**, v. 27, n. 2, p. 181-186. 2004.

PALAZUELOS BALLIVIÁN, J.M. (Org.). **Abelhas Nativas sem Ferrão: Mÿ g Pẽ.** São Leopoldo: **Oikos**, 2008. 128 p.

PARANÁ, Instituto Ambiental do. **Plano de Conservação para Abelhas Sociais Nativas sem Ferrão.** IAP/Projeto Paraná Biodiversidade, 2009. Disponível em: <http://www.redeprofauna.pr.gov.br/arquivos/File/Abelhasweb.pdf>. Acesso em: 25 out. 2020.

PIGNATI, W.A., SOUZA E LIMA, F.A.N.S., LARA, S.S.D., CORREA, M.L.M., et al., 2017. Spatial distribution of pesticide use in Brazil: a strategy for health surveillance. **Cien. Saude Coletiva** 22 (10), 3281–3293. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017>. Acesso em: 25 out. 2020.

POTTS, S. G., V. L. IMPERATRIZ-FONSECA & H. T. Ngo (eds.). **IPBES – The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production.** Bonn: Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services; 2017. 552 p.

POTTS, S. G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.; NGO, H. T.; AIZEN, M. A.; BIESMEIJER, J. C.; BREEZE, T. D.; DICKS, L. V.; GARIBALDI, L. A.; HILL, R.; SETTELE, J.; VANBERGEN, A. J. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**, 540: 220-229, 2016.

QUINALHA, M. M. **Influência das interações com abelhas mutualistas e antagonistas e da disponibilidade de recursos maternos sobre o sucesso reprodutivo de uma espécie de Bignoniaceae de cerrado**. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual Paulista. 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/144334>. Acesso em: 20 out. 2019.

RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J. 1977. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 517-528, 1977.

SANTIAGO, L. R. **Variabilidade genética de *Tetragonisca angustula* (hymenoptera, Apidae, meliponini) de meliponários**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Biológicas, Departamento de genética e biologia evolutiva, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-28082013-110614/es.php>>. Acesso em: 29 out. 2020.

SHACKLETON, K.; AL TOUFAILIA, H.; BALFOUR, N.J.; ALVES, D.A.; RATNIEKS, F.L.W. Appetite for self-destruction: suicidal biting as a nest defense strategy in *Trigona stingless* bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 69, n. 2, p. 273-281, 2015.

SILVA, Elizabeth Renata da. **Doses subletais de pesticida (acetamiprido) não influenciam na sobrevivência mas afetam significativamente a comunicação da abelha *Melipona quadrifasciata* (Apidae: Meliponini)**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/3214>. Acesso em: 10/11/2020.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, Santa Teresa, v. 10, n. 3, p. 146-152, 2012. Disponível em: http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/09_Silva_Paz_146152.p. Acesso em: 10 jun. 2019.

SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Silveira, 2002.

TESSARI, C. S. **Efeito da exposição sub-crônica de camundongos BALB/c ao herbicida glifosato-biocarb sobre a resposta imune humoral e o comportamento**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências, 2006. Disponível em: <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/88762>. Acesso em: 25 out. 2020.

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

TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B.; D'ANTONIO, C.; DOBSON, A.; HOWARTH, R.; SCHINDLER, D.; SCHLESINGER, W.H.; SIMBERLOFF, D.; SWACKHAMER, S. 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. **Science**, v. 292, n. 5515, p. 281-284, 2001.

TONI, L.R.M.; DE SANTANA, H.; ZAIA, D.A.M. 2006. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v29n4/30266.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2019.

TOLEDO, R. J.; GUILLÉN, S. D. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**, v. 30, n. 2, p. 408-413, 2014.

UMADA, M. K. **Potencial antimicrobiano correlacionado as características físico-químicas de amostras do mel de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) produzido no Estado do Paraná.** 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2764>. Acesso em: 15 nov. 2019.

VALADARES, A.; ALVES, F.; GALIZA, M. **O Crescimento do uso de agrotóxicos: uma análise descritiva dos resultados de Censo Agropecuário 2017.** 2020. Disponível em: https://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/nota_tecnica/200429_nt_disoc_n65.pdf. Acesso em: 03 out. 2020.

WITTER, Sidia et al. As abelhas e a agricultura. Porto Alegre: **EDIPUCRS**, 2014, 143 p. Disponível em: <https://editora.pucrs.br/edipucrs/acessolivre/Ebooks//Pdf/978-85-397-0658-7.pdf>. Acesso em: 25 out. 2020.

WOLOWSKI, M.; AGOSTINI, K.; RECH, A. R.; VARASSIN, I. G.; MAUÉS, M.; FREITAS, L.; CARNEIRO, L. T.; BUENO, R. O.; CONSOLARO, H.; CARVALHEIRO, L.; SARAIVA, A. M. & SILVA, C. I. Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. Espírito Santo: **REBIPP**, 2019. 93 p. Disponível em: https://www.bpbes.net.br/wp-content/uploads/2019/03/BPBES_CompletoPolinizacao-2.pdf. Acesso em: 25 out. 2020.

WRIGHT, G.A., LILLVIS, J.L., BRAY, H.J., MUSTARD, J.A. **Physiological state influences the social interactions of two honeybee nest mates.** 2012. PLoS One 7 (3), e32677. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032677>.

ZHANG, W.; JIANG, F.; OU, J. Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. **Proc. Int. Acad. Ecol. Environ. Sci**, v. 1, p. 125-144, 2011.