

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ENGENHARIA FLORESTAL
BACHARELADO EM ENGENHARIA FLORESTAL**

LUANA MICHELE BOEIRA

**QUAL É O IMPACTO DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE
OPERÁRIAS FORRAGEIRAS DE *Apis mellifera* AFRICANIZADA?**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Dois Vizinhos

2019

LUANA MICHELE BOEIRA

**QUAL É O IMPACTO DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE
OPERÁRIAS FORRAGEIRAS DE *Apis mellifera* AFRICANIZADA?**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel, em
Engenharia Florestal, da
Coordenação de Engenharia
Florestal, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a Michele
Potrich

Co-Orientadora: Msc. Fernanda
Caroline Colombo

Dois Vizinhos

2019



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos



Curso de Engenharia Florestal

TERMO DE APROVAÇÃO

Qual é o impacto dos fungos entomopatogênicos sobre operárias forrageiras de *Apis mellifera* africanizada?

por

Luana Michele Boeira

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 03 de Dezembro de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a Dra. Michele Potrich
Orientadora

Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva
Membro titular (UTFPR)

Eng. Agrônoma Raiza Abati
Membro titular (UTFPR)

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

RESUMO

BOEIRA, Luana M. **Qual é o impacto dos fungos entomopatogênicos sobre operárias forrageiras de *Apis mellifera* africanizada?** 2019. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

As abelhas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) são insetos sociais que polinizam mais de 80% das espécies vegetais, além de serem produtoras de mel, geleia real, cera, própolis e apitoxina. Entretanto, estas abelhas estão desaparecendo e isso está sendo relacionado, principalmente, com a utilização de inseticidas químicos sintéticos, porém, pouco se sabe sobre o efeito dos entomopatógenos utilizados no controle biológico de insetos praga. Desta forma, o trabalho teve como objetivo avaliar o impacto dos fungos entomopatogênicos, *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, sobre operárias forrageiras de *A. mellifera* africanizadas. Para isto, estes fungos, na concentração de 1×10^8 conídios.ml⁻¹, foram testados sobre operárias forrageiras de *A. mellifera*. Foram realizados dois bioensaios: 1) contato de *A. mellifera* com folhas de eucalipto imersas em cada solução e 2) contato com superfície vítrea pulverizada com os tratamentos. Para a testemunha utilizou-se água destilada esterilizada contendo Tween 80® (0,01%). Após o contato, as operárias foram transferidas em grupo de 20 indivíduos para gaiolas de PVC, cobertas com *voil*. Cada tratamento foi composto por cinco repetições (gaiolas de PVC), com 20 abelhas por repetição. Estas foram acondicionadas em sala climatizada ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas). A sobrevivência/mortalidade das operárias foi avaliada a partir de 1 até 240 horas. As abelhas que sobreviveram expostas aos fungos após 24 horas, foram submetidas à análise voo e retomada de voo (queda), que foi conduzido em uma sala escura. Foram utilizadas 10 abelhas por tratamento para cada teste. Os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* nas concentrações utilizadas não reduziram a sobrevivência das forrageiras de *A. mellifera* quando em contato com a superfície vítrea. Quando testadas em contato com as folhas de eucalipto, apenas o fungo *M. anisopliae* reduziu a sobrevivência das abelhas. Na análise de voo e retomada de voo não houve diferença significativa entre as operárias provenientes da testemunha e as dos tratamentos com os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, comprovando que os usos destes entomopatógenos não afetam o voo de *A. mellifera*. Apenas o fungo *M. anisopliae* provocou impacto negativo na sobrevivência de forrageiras de *A. mellifera* quando as mesmas entraram em contato com o produto em folhas de eucalipto. Ademais, conforme os testes realizados, os fungos entomopatogênicos aqui testados não impactaram negativamente as operárias forrageiras de *A. mellifera* africanizada.

Palavras-chave: Abelha Africanizada. Controle biológico. Entomopatógenos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Organismos não-alvo.

ABSTRACT

BOEIRA, Luana M. **What is the impact of entomopathogenic fungi on forage workers of Africanized *Apis mellifera*?** 2019. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Engenharia Florestal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

Apis mellifera bees (Hymenoptera: Apidae) are social insects that pollinate over 80% of plant species, in addition to producing honey, royal jelly, wax, propolis and apitoxin. However, these bees are disappearing and this is mainly related to the use of synthetic chemical insecticides, but little is known about the effect of entomopathogens used in the biological control of insect pests. Thus, the work aimed to evaluate the impact of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on Africanized *A. mellifera* forage workers. For this, these fungi, at a concentration of 1×10^8 conidia.ml⁻¹, were tested on *A. mellifera* forage workers. Two bioassays were carried out: 1) contact of *A. mellifera* with eucalyptus leaves immersed in each solution and 2) contact of sprayed glass surface with the treatments. For control, sterile distilled water containing Tween 80® (0.01%) was used. After contact, the workers were transferred in a group of 20 individuals to PVC cages, covered with voile. Each treatment consisted of five repetitions (PVC cages) with 20 bees per repetition. These were stored in a climate-controlled room ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ U.R and 12 hour photophase). Worker survival / mortality were assessed from 1 to 240 hours. The bees that survived exposed to the fungi after 24 hours were submitted to flight analysis and resumed flight (fall), performed in a dark room. Ten bees were used per treatment for each test. The fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae* in the concentration used do not reduced the survival of Africanized *A. mellifera* when in contact with Petri dishes. When tested in contact with eucalyptus leaves, only *M. anisopliae* fungus reduced bee survival. In the flight analysis and flight resumption, there was no significant difference between the workers from the control and those from the treatments with the fungus *B. bassiana* and *M. anisopliae*, proving that the use of these entomopathogens does not affect the flight of *A. mellifera*. In the flight analysis and flight resumption, there was no significant difference between the workers from the control and those from the treatments with the fungus *B. bassiana* and *M. anisopliae*, proving that the use of these entomopathogens does not affect the flight of *A. mellifera*. Only the fungus *M. anisopliae* negatively impacts the survival of *A. mellifera* forages when they came into contact with the product in eucalyptus leaves. Furthermore, according to the tests performed, the entomopathogenic fungi tested here do not negatively affect the forage workers of Africanized *A. mellifera*.

Keywords: Africanized Bee. Biological control. Entomopathogens *Beauveria bassiana* *Metarhizium anisopliae*. Non-target organisms.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 APICULTURA.....	8
2.2 BIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO DE <i>Apis mellifera</i> AFRICANIZADA	11
2.3 ORGANIZAÇÃO SOCIAL DE <i>A. mellifera</i> AFRICANIZADA.....	13
2.4 DESORDEM DAS COLÔNIAS	15
2.5 CONTROLE BIOLÓGICO COM FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS	19
2.6 SELETIVIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATÓGENOS À <i>APIS MELLIFERA</i> ...	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS	24
3.2 OBTENÇÃO DAS ABELHAS <i>Apis mellifera</i>	24
3.3 BIOENSAIO 1: EFEITO DE <i>B. bassiana</i> E <i>M. anisopliae</i> SOBRE OPERÁRIAS DE <i>A. mellifera</i> POR CONTATO EM FOLHAS DE EUCALIPTO.....	25
3.4 BIOENSAIO 2: EFEITO DE <i>B. bassiana</i> E <i>M. anisopliae</i> SOBRE OPERÁRIAS DE <i>A. mellifera</i> POR CONTATO EM PLACAS DE PETRI.....	26
3.5 BIOENSAIO 3: ANÁLISE DE VOO E RETOMADA DE VOO	28
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 BIOENSAIO 1: EFEITO DE <i>B. bassiana</i> E <i>M. anisopliae</i> SOBRE OPERÁRIAS DE <i>A. mellifera</i> POR CONTATO, EM FOLHAS DE EUCALIPTO.....	32
4.2 BIOENSAIO 2: EFEITO DE <i>B. bassiana</i> E <i>M. anisopliae</i> SOBRE OPERÁRIAS DE <i>A. mellifera</i> POR CONTATO, EM PLACAS DE PETRI.....	34
4.3 BIOENSAIO 3: ANÁLISE DE VOO E RETOMADA DE VOO	36
5 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

A maioria das espécies vegetais é polinizada por insetos, sendo as abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) os mais importantes polinizadores nos ecossistemas. As abelhas são responsáveis pela polinização de mais de 78% das espécies vegetais (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012), além de produzirem mel, própolis, geleia real, cera e apitoxina (WIESE, 2005; TAUTZ, 2010; OLINTO, 2015; PEGORARO et al., 2017).

Uma colônia de abelhas é composta por uma rainha, por operárias e zangões, todas as castas são responsáveis por uma função dentro da colmeia. As operárias são responsáveis pela limpeza da colônia, proteção e alimentação das crias, pelo forrageamento fora da colmeia, trazendo para esta, pólen, água e néctar (PEREIRA et al., 2003; RAMOS; CARVALHO, 2006; TAUTZ, 2010).

Segundo Fries e Camazine (2001) é no momento do forrageamento que as operárias entram em contato com inseticidas químicos sintéticos, ou com outros micro-organismos como fungos, bactérias e vírus. Dessa maneira, podem ser contaminadas e ainda disseminar estes agentes para dentro da colônia, acarretando na mortalidade e até no desaparecimento das abelhas.

A diminuição das abelhas, ocasionada especialmente pela mortalidade, pode estar relacionada há alguns aspectos como alterações/fragmentações dos ecossistemas, plantações de monocultura, redução de alimento e de abrigo. Porém, o principal fator é a utilização de inseticidas químicos sintéticos com ingredientes à base de neonicotinoides (tiametoxam) e pirazol (fipronil). Estes são utilizados em larga escala nas culturas e apresentam alta toxicidade aos insetos, incluindo organismos não-alvo, como as abelhas (CARVALHO, 2009; BOVI et al, 2018; SOUZA, 2019).

As abelhas que são expostas a contaminantes têm algumas capacidades afetadas, como funções motoras básicas. Com isso, acabam prejudicando o comportamento de voo e, provavelmente, a atividade de forrageamento, impedindo o correto funcionamento da colônia, bem como o serviço de polinização realizado por esses insetos (BAINES et al., 2017; GOMES, 2017).

No ano de 2006 o fenômeno conhecido como Desordem do Colapso das Colônias (DCC) de *A. mellifera* foi alertado pelos apicultores dos Estados Unidos da América, onde milhares de colônias desapareceram em poucas semanas, com isso a agricultura sofreu grandes danos em função da falta de polinização das abelhas. No Brasil a mortalidade das abelhas foi relatada em 2008 no estado de São Paulo (WILLIAMS et al 2010; GONÇALVES, 2012).

Diversas causas podem estar associadas ao DCC e a mortalidade das abelhas, mas a utilização de químicos sintéticos no Brasil é um dos fatores que pode intensificar este processo (COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; MESSAGE et al., 2011; GONÇALVES, 2012). Desta maneira, são necessárias algumas técnicas de controle de insetos-praga que sejam considerados menos prejudiciais as abelhas, reduzindo ou evitando as consequências do DCC e da mortalidade das abelhas.

. Dentre essas, a sensibilização para que os inseticidas químicos sejam utilizados de forma correta, sendo associados a produtos de controle biológico com a utilização de fungos entomopatogênicos, que é uma alternativa viável para controlar insetos em áreas onde ocorre a polinização pelas abelhas (ALVES, 1998; MALASPINA et al., 2008; OLIVEIRA, 2015).

Os fungos dispõem de um largo espectro de insetos hospedeiros, devido a sua penetração ser através do tegumento e por possuírem uma variabilidade genética. Além disso, existem inúmeros bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos que são preparados, registrados e vendidos comercialmente, pois estes controlam insetos-pragas como gorgulho do eucalipto, broca-do-café, percevejos, mosca branca, larvas de lepidópteros e ácaros (ALVES, 1998; BUENO et al, 2015; AGROFIT, 2018). Desta forma, estudos têm sido feitos com o intuito de verificar os possíveis impactos desses entomopatógenos, especialmente *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, sobre *A. mellifera*.

Kanga, Jones e James (2003) verificaram o potencial do fungo *M. anisopliae* para controlar o ácaro *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) em colônias de abelhas adultas de *A. mellifera*, o qual foi inofensivo para as abelhas e eficaz no controle do ácaro. Em trabalhos de Al Mazra'awi et al., (2006) os autores verificaram três isolados de *B. bassiana* ARSEF 3769 (ARK),

NY (NY; BB008, SCPFRC, Londres, Ontário, Canadá) e o isolado comercial GHA (BotaniGard WP; Emerald BioAgriculture, Salt Lake City, UT) os quais não ocasionaram mortalidade em *A. mellifera*, sendo seletivos a estas.

O controle biológico apresenta vantagens, como a seletividade, em relação aos produtos químicos sintéticos, mas é essencial testar a toxicidade sobre organismos não-alvos, como às abelhas *A. mellifera* (GALLO et al., 2002; SILVA, 2014; OLIVEIRA, 2015; POTRICH et al., 2018).

Destaca-se a importância de testar sobre as abelhas, pois as mesmas desempenham um papel fundamental na polinização das espécies. Entretanto, esta polinização está comprometida devido a mortalidade das abelhas, ocasionada pelo uso excessivo e incorreto de inseticidas químicos sintéticos. É indispensável uma atitude que preserve as abelhas e demais polinizadores, reduzindo a utilização de inseticidas químicos sintéticos. Uma alternativa é o uso de produtos que diminua o impacto causado a estes organismos não-alvos, como fungos entomopatogênicos. A fim de atestar a segurança desses agentes, este trabalho objetivou avaliar o impacto dos fungos entomopatogênicos, *B. bassiana* e *M. anisopliae*, na sobrevivência, no voo e na queda (retomada de voo) de operárias forrageiras de *A. mellifera* africanizadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 APICULTURA

A apicultura é ciência que se refere à criação de abelhas, práticas e manejos adequados para obter maior produção de mel e cera de abelha (GALLO et al., 2002; COUTO; COUTO, 2006). A atividade apícola é uma prática antiga e de importância para a humanidade, pois disponibiliza uma ampla contribuição ao homem através da polinização, produção de mel, pólen, geleia real, própolis, cera e apitoxina (WIESE, 2005; COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; TAUTZ, 2010; OLINTO, 2015; PEGORARO et al., 2017). Houve uma motivação global para a prática apícola com o objetivo de aumentar a produção agrícola (GALLO et al., 2002; SOUZA et al., 2016).

A apicultura brasileira foi demarcada por duas etapas importantes, uma antes das abelhas africanas e outra após. Na primeira etapa as abelhas eram na sua maioria de raças italiana, europeia ou cárnica, sendo puras ou mestiças. A segunda etapa ocorreu após o ano de 1956, no qual foram introduzidas no país as abelhas *Apis mellifera scutellata* (abelhas africanas) utilizadas com o intuito de executar um programa de melhoramento genético que fosse capaz de aumentar a produção de mel do país (RAMOS; CARVALHO, 2007; PEGORARO et al., 2017).

Devido a um acidente, 26 colônias com suas rainhas acabaram escapando do cativeiro, essas rainhas africanas enxamearam e cruzaram com as abelhas europeias já existentes no Brasil, originando as abelhas africanizadas, que por sua rapidez em se dispersar iniciaram a africanização em todo o país (VIEIRA, 1986; SOARES, 2012). As abelhas antes chamadas de europeias, hoje são denominadas *A. mellifera* africanizada. Há registros que esse cruzamento ocorreu na América do Sul, na América central e em alguns países norte-americanos (COUTO; COUTO, 2006).

As abelhas africanizadas possuem alguns benefícios quando comparadas com as de origem europeia: possuem alta capacidade de defesa, maior produção de mel, trabalham de forma acelerada e com isso apresentam maior aproveitamento de seu tempo (PEGORARO et al., 2017). Devido à

agilidade das africanizadas, a limpeza de suas colmeias é mais eficiente, retirando abelhas mortas e sujeiras no local, evitando contaminações e ácaros. Possuem um ciclo de vida mais curto, com maior produção de ovos, chegando à postura de 2000 ovos por dia, enquanto as europeias fazem a postura de 1000 ovos (COUTO; COUTO, 2006). Elas possuem alguns aspectos negativos como o comportamento de maior agressividade, e devido á elas formarem ninhos tanto em áreas urbanas e rurais, favorece a ocorrência de acidentes tanto com humanos, quanto com animais. Sendo assim, o setor da apicultura readaptou suas técnicas e práticas para trabalhar com estas abelhas. Técnicas essas que tiveram o auxílio técnico-científico para identificar a biologia e o comportamento das abelhas, para que houvesse uma diminuição nos efeitos negativos que elas apresentavam como a sua agressividade (SANTOS, MENDES, 2016).

A partir do surgimento das abelhas *A. mellifera* africanizada, a apicultura nacional tem demonstrado um crescimento significativo na produção de mel, devido à ampla proporção do território nacional, flora bastante diversificada e condições climáticas favoráveis, que permitem uma alta produção ao longo de todo ano. No Brasil, a abelha africanizada é espécie mais importante para a apicultura (GALLO et al., 2002; A.B.E.L.H.A., 2015). onde as colônias de *A. mellifera*, constantemente, são usadas para polinização de culturas agrícolas e florestais (SANTOS, 2017).

A produção de mel no Brasil tem apresentado destaque para a economia brasileira. De acordo com a Associação Brasileira dos Exportadores de Mel (ABEMEL), o Brasil teve um faturamento no setor exportador de US\$98,5 milhões no ano de 2014, colocando o Brasil no posto de oitavo maior exportador de mel, exportando 38,4 toneladas de mel. No ano de 2015 faturou US\$81,7 milhões, exportando 37,8 toneladas de mel, sendo este o segundo melhor ano de exportações do Brasil (ABEMEL, 2017).

De acordo com a Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB) e com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil produziu no ano de 2016, 39.589 toneladas de mel. Já no ano de 2017 o IBGE de 2018, a produção de mel no Brasil aumentou 1,6% em relação ao ano anterior 2016, o país chegou a produzir 42,3 toneladas de mel, sendo o estado do Rio Grande

do Sul o maior produtor de mel de abelha produzindo 6,4 toneladas anuais, representando (15,2%), em segundo lugar o Paraná com 6,3 toneladas de mel (14,9%).

De acordo com Cário et al. (2015), o Paraná tem apresentado um avanço na cadeia produtiva nos segmentos produtores: fornecedor e processador de mel, em função do melhoramento do processo produtivo. Para isso, foram introduzidas técnicas inovadoras como localização, espaçamento entre colmeias, limite máximo de colmeia por apiário, utilização de sombreamento e inclusão de apiários próximos à fonte de água.

Além da compra de equipamentos modernos inoxidáveis em substituição aos de folhas de flandres, pois antes passavam chumbo, óxido de ferro e outros elementos para o produto, prejudicando sua qualidade, além de melhoras durante o processamento e diversidade de produtos (CÁRIO et al., 2015). No entanto, o mesmo autor ainda cita que existem alguns pontos que estão restringindo um desempenho maior, como a baixa especialização dos produtores, baixo conhecimento sobre a atividade, manejo de forma inadequada, falsificação de produto como o mel e oportunismo na negociação.

As colônias de *A. mellifera*, constantemente são usadas para polinização de culturas agrícolas e florestais (SANTOS, 2017). Algumas das espécies em que as abelhas *A. mellifera* são de grande importância: *Eucalyptus* spp., *Citrus* spp., *Eugenia uniflora*, *Anadenanthera colubrina* e *Psidium guajava* (MARCHINI et al., 2001; SANTANA, 2003). As florestas plantadas com eucalipto são frequentemente visitadas durante as floradas por *A. mellifera* (KOMATSU, MARCHINI, MORETI; 2002).

As abelhas *A. mellifera* são de extrema importância para o setor florestal, pois através da polinização surge um aumento na produção de diversas espécies de valor comercial. Segundo Silva, Oliveira (2003) as abelhas *A. mellifera* têm papel essencial na polinização de eucalipto, a partir da polinização cruzada, que ocorrem entre indivíduos diferentes, o aparecimento delas em florestas plantadas aumentam a quantidade de sementes por quilograma.

Outra possibilidade de obter renda com a apicultura é a utilização de colmeias para a produção de mel, em locais que antes eram impossibilitadas

ou protegidas por lei como em Unidades de Conservação (UC), em Áreas de Preservação Permanente (APP) e em Reservas Legais nas propriedades, além de beneficiar o ambiente através da polinização das abelhas, beneficia os produtores familiares e faz o uso sustentável destas áreas (LINS; 2009; LAZAROTTO; CERICARO, 2014).

2.2 BIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO DE *A. mellifera* AFRICANIZADA

As abelhas da espécie *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, são consideradas os mais importantes insetos úteis pelo fato de realizarem a coleta de pólen, néctar e água das plantas, principalmente das flores, auxiliando na polinização (RAMOS; CARVALHO, 2007; COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010).

Assim como todos os insetos, as abelhas possuem seu corpo dividido em três partes: cabeça, tórax e abdômen (COUTO; COUTO, 2006; RAMOS, CARVALHO, 2007). Elas são revestidas por uma camada externa chamada exoesqueleto, que é composto por quitina, o qual fornece proteção aos órgãos internos, sustentação para os músculos, além de proteger contra predadores e perda de água (PEREIRA et al., 2003).

As abelhas possuem na cabeça órgãos sensoriais, como antenas, olhos simples (ocelos) e olhos compostos, que permitem a percepção do ambiente. As antenas são encarregadas pelos sentidos da audição, tato e olfato, fundamentais quando a colmeia está no escuro, e para detectar companheiras e inimigos. Os olhos compostos possuem a função de percepção de luz, movimentos e cores, orientando durante os voos (ITAGIBA, 1997).

Possuem aparelho bucal do tipo lambedor, que consiste de duas mandíbulas e a probóscide formada pela língua (glossa) e pelas maxilas (COUTO; COUTO, 2006). A mandíbula serve para fazer a coleta do pólen, mastigação da cera, além de ser responsável pela limpeza do ninho, retirando abelhas mortas, auxilia na alimentação da cria e ajudam na defesa. A função da língua é a coleta e ingestão de líquidos, transferência de alimentos na desidratação do néctar e na evaporação da água para controlar a temperatura

do ninho (PEREIRA et al., 2003). As abelhas possuem diferentes mecanismos de comunicação representados através de danças, sons e substâncias químicas que são chamados de feromônios (ITAGIBA, 1997).

O tórax possui três segmentos, no qual estão localizados os apêndices locomotores pernas e asas. Em cada segmento está presente um par de pernas e nos dois segmentos posteriores apresentam as asas. Cada par de pernas é responsável por uma função peculiar, sendo o primeiro, as pernas anteriores, encarregado da limpeza dos olhos, antenas, língua e mandíbula. No segundo segmento estão as pernas medianas e sua função é limpar as asas e retirar o pólen acumulado nas pernas posteriores, o terceiro par que são adaptadas para o transporte de pólen e resinas denominadas corbículas (ITAGIBA, 1997).

O abdômen contém a maioria dos órgãos que são responsáveis pelo funcionamento do corpo, como sistema digestivo, circulatório, respiratório, nervoso, glandular e reprodutivo. Ainda no abdômen está localizada a vesícula melífera, que é utilizada para o transporte de água para a colmeia e transforma o néctar em mel; as glândulas cerígenas, e os órgãos exclusivos de rainhas, operárias e zangões.

Nas fêmeas existem sete segmentos e nos machos oito. Nas operárias e nas rainhas existe o ferrão, que é utilizado para a sua defesa, ele é composto de quitina e pelo músculo que exerce a função de introduzir o ferrão e injetar o veneno. Além disso, estão situados também os órgãos do sistema reprodutivo (PEREIRA et al., 2003). O zangão não possui ferrão, no seu abdômen está seu órgão reprodutor, que constitui de um par de testículos, glândulas de muco e falo (WIESE, 2005).

O ovo das abelhas é cilíndrico, medindo 1,6 x 0,4 milímetros. Possui uma abertura pequena na parte anterior, chamado de micrópila, que é por onde os espermatozoides penetram. A larva das abelhas é vermiforme, não possui pernas externas ou asas, possui uma cabeça pequena e 13 segmentos que não são diferenciados em tórax e abdômen e durante esse estágio estoca substâncias nutritivas em seu corpo gorduroso (COUTO; COUTO, 2006). A larva passa por cinco estádios de desenvolvimento antes de se tornar pupa e antes da última troca, ela tece seu casulo. Durante a fase de pupa, ocorre a

constrição e separação da cabeça, tórax e abdome, as antenas, asas e pernas são evertidas, seus olhos compostos e peças bucais se distinguem (COUTO; COUTO, 2006).

2.3 ORGANIZAÇÃO SOCIAL DE *A. mellifera* AFRICANIZADA

As abelhas se caracterizam por viver numa sociedade organizada em castas, o trabalho é dividido e cada indivíduo possui diferentes funções, que são executadas objetivando a sobrevivência e manutenção da colmeia. Em condições normais, uma colônia de *A. mellifera* possui uma rainha, cerca de 5.000 a 100.000 operárias e de 0 a 400 zangões. São insetos holometábolos, que apresentam metamorfose completa em seu desenvolvimento, passando pela fase de ovo, larva, pupa e adulto (PEREIRA et al., 2003) (Quadro 1).

Quadro 1 - Ciclo evolutivo, em dias, de rainhas, operárias e zangões de *Apis mellifera*.

Fases / Casta	Rainha (dias)	Operária (dias)	Zangão (dias)
Ovo	3	3	3
Larva	5	6	6,5
Pupa	7	12	14,5
Total (dias)	15	21	24

Fonte: GALLO et al, 2002.

A rainha jovem, com mais ou menos cinco dias de idade, inicia o voo de orientação próxima das colmeias atraindo os zangões a uma distância de até cinco quilômetros. A fecundação natural da rainha ocorre próximo aos nove dias da sua vida adulta e em uma única vez durante o voo nupcial, podendo ser fecundada por até 17 zangões e o sêmen é armazenado na espermateca, com espermatozoides para toda a sua vida reprodutiva (GALLO et al., 2002; WIESE, 2005; COUTO; COUTO, 2006).

Esses voos acontecem de preferência pela manhã, a altura de 8 a 20 metros do solo. Depois de três dias da cópula, ocorre a postura dos ovos em cada alvéolo, por um período de até cinco anos. Através de seu feromônio produzido pelas glândulas mandibulares, a rainha executa a função de impedir

a formação de novas rainhas e de manter a colônia em equilíbrio (GALLO et al., 2002; WIESE, 2005).

Ao iniciar a postura dos ovos, a rainha inicia o ciclo evolutivo contínuo na colmeia, cerca de três dias após a postura, a película onde o embrião se desenvolve se rompe e eclode a larva. Algumas larvas recebem geleia real durante seu desenvolvimento, estas serão as rainhas formadas nas realeiras e as larvas que, a partir do 2º dia recebem mel e pólen darão origem as operárias e zangões (COUTO; COUTO, 2006; GALLO et al., 2002).

Os zangões são os indivíduos machos da colônia. A principal função deles é fecundar a rainha durante o voo nupcial, que ocorre, aproximadamente, no 12º dia de vida, quando eles atingem a maturidade sexual. Logo após a cópula o zangão morre devido a seu órgão genital ficar preso no órgão genital da fêmea (COUTO; COUTO, 2006, STRAUB et al., 2016).

As operárias são indivíduos do sexo feminino, mas se diferem da rainha por possuírem órgão reprodutor atrofiado e transformação do ovipositor em ferrão, seu órgão de defesa (GALLO et al., 2002; RAMOS; CARVALHO, 2007). Todos os trabalhos desenvolvidos dentro da colmeia são tarefas das operárias, que possuem glândulas e estruturas anatômicas especializadas (ITAGIBA, 1997; COUTO; COUTO, 2006, RAMOS; CARVALHO, 2007).

O controle da umidade e temperatura dentro das colônias é essencial para a fermentação do pólen e do mel, para o desenvolvimento da cria e manutenção da saúde da colônia e, para isto, as abelhas possuem um mecanismo especial. Nos dias quentes, elas carregam mais água para o interior da colônia e criam fluxos de ar a partir da vibração de suas asas, desta forma diminuindo a temperatura. E nos dias frios, elas se agrupam dentro do ninho, pois o metabolismo das abelhas é acelerado e auxilia no aquecimento interno da colônia (PALUDO, 2017).

A divisão do trabalho, normalmente, depende da idade da operária, mas caso haja necessidade da colônia, podem existir mudanças (Quadro 2).

Quadro 2 - Ciclo de trabalho das operárias de *Apis mellifera*.

IDADE (dias)	FUNÇÕES
1 a 3	Faxineiras: fazem a limpeza e reforma polindo os alvéolos.
3 a 7	Nutrizes: alimentam com mel e pólen as larvas com mais de 3 dias.
7 a 14	Alimentam as larvas com idade inferior a 3 dias com geleia real. Neste período algumas cuidam da rainha, as chamadas amas.
12 a 18	Fazem a limpeza do lixo da colmeia.
14 a 20	Engenheiras: segregam a cera e constroem os favos.
18 a 20	Guardas: defendem a colmeia contra inimigos e contra apicultor desprevenido.
A partir dos 21	Operárias: trazem néctar, pólen, água e própolis até a morte.

Fonte: Ramos; Carvalho, 2007.

No início da vida adulta das abelhas operárias elas auxiliam de várias formas dentro e fora da colônia. Ajudam na limpeza, na proteção do ninho, na alimentação das crias e na construção de favos. Após os vinte e um dias de vida adulta elas iniciam as o trabalho de forrageamento trazendo água, néctar e pólen de fora da colmeia trazendo para dentro do ninho (PEREIRA et al., 2003; RAMOS; CARVALHO, 2007). É justamente, nesse instante que elas ficam expostas e propensa a contaminação através de produtos químicos e possivelmente acabam infectando a colônia (FRIES; CAMAZINE, 2001; FREITAS; PINHEIRO, 2012).

2.4 DESORDEM DO COLAPSO DAS COLÔNIAS E MORTALIDADE DE ABELHAS

Nos últimos anos um grave problema tem colocado a agricultura em alerta. Trata-se do desaparecimento das abelhas, fenômeno também chamado de Desordem do Colapso das Colônias (DCC) ou Colony Collapse Disorder (CCD) de *A. mellifera* (VanENGELSDORP et al., 2007; COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; WILLIAMS et al 2010; GONÇALVES, 2012). O DCC é a redução e o desaparecimento súbito de populações de abelhas, perda rápida de indivíduos adultos das colônias em poucos dias ou semanas e elas

somem sem deixar vestígios de morte dentro ou fora das colônias (GONÇALVES, 2012; IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012).

No ano de 2006, a apicultura dos Estados Unidos da América foi alarmada em função da dizimação de milhares de colônias causando grande prejuízo para a agricultura devido à falta de polinização (VanENGELSDORP et al., 2007; COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; PIRES et al., 2016). De acordo com a Confederação Brasileira de Apicultura (CBA), os EUA perderam cerca de um milhão de abelhas, as perdas foram registradas em 21 estados norte-americanos (VanENGELSDORP et al., 2007; NICOLETTI, 2013).

Segundo VanEngelsdorp et al. (2007) dados avaliados com apicultores entre 2006 e 2010, os EUA apresentou um grande declínio das populações de *A. mellifera* com perdas médias de 30% das colônias durante o inverno de 2006/2007. O fenômeno DCC é o maior problema para a apicultura mundial e tem surgido em muitos locais do mundo, até em algumas áreas do Brasil (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012).

No ano de 2008 foram registrados os primeiros relatos semelhantes ao DCC no Brasil, na cidade de Altinópolis, no estado de São Paulo. No local haviam poucas crias e abelhas adultas, muito mel e pólen, presença de rainha e desaparecimento de crias doentes. No ano de 2010 na cidade de Ribeirão Preto, SP, também foi registrado a perda de colônias com sinais similares aos DCC, com alta existência de crias anômalas e morte das abelhas adultas. Nos últimos anos, foram confirmadas por apicultores, perdas de colônias nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e em Minas gerais (MESSAGE et al., 2011; GONÇALVES, 2012; PIRES et al., 2016).

Em agosto de 2010, um apicultor do estado de Minas Gerais, relatou perdas que se assemelham ao DCC (MESSAGE; TEIXEIRA; JONG, 2012). Já no ano de 2012, alguns casos foram constatados em Florianópolis no estado de Santa Catarina, onde apicultores apontaram perdas de 50% a 90% de suas colônias no momento da polinização, com graves prejuízos econômicos (GONÇALVES, 2012).

Algumas das possíveis explicações para o DCC são combinações de vários fatores, como o uso de inseticidas químicos sintéticos para controle de pragas. Estes, que são utilizados em doses exageradas ou incorretas nas

regiões de ocorrência (COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; WILLIAMS et al., 2010; MESSAGE et al., 2011).

Outros fatores também são indicados pelos menos autores, como perda de habitat devido ao desmatamento, mudanças climáticas, variabilidade genética baixa das rainhas, toxinas químicas que podem estar presentes no meio ambiente, desnutrição das abelhas em função das colônias serem conduzidas para polinização de monoculturas, com acesso limitado a apenas um tipo de pólen de cada vez, ao aparecimento do ácaro *Varroa destructor* e patógenos associados (COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; WILLIAMS et al., 2010; MESSAGE et al., 2011).

Estudos indicam que depois da introdução de *V. destructor* nos EUA, a perda das populações de abelhas foi agravada e as taxas de declínios aumentaram. O ácaro *V. destructor* alimenta-se da hemolinfa das larvas, pupas e adultos, diminuindo a imunidade das abelhas e podendo transmitir vários tipos de vírus, como o deformador de asas (GALLAI et al, 2009; COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010, ELLIS; EVANS E PETTIS, 2010; ARAUJO et al., 2015).

Muitas culturas agrícolas apesar de proporcionarem ampla fonte de néctar e pólen, são consideradas, na maior parte das vezes, como ameaças as abelhas, devido às práticas ecologicamente incorretas. Dentre essas práticas, o uso incorreto de químicos sintéticos é o principal fator, pois as abelhas operárias, na hora da polinização em busca de alimentos, ficam expostas a contaminação e, conseqüentemente, podem contaminar a colônia (FREITAS; PINHEIRO, 2012). Nas abelhas os inseticidas afetam de diversas formas, como por ingestão, contato e fumigação, sendo que suas conseqüências podem acarretar na redução da longevidade, ocasionar a morte por toxicidade e gerar irregularidades no funcionamento da colônia (MALASPINA et al., 2008).

Barnett et al. (2007) verificaram entre os anos de 1989 e 2003, no Reino Unido, que o declínio da população de abelhas estava correlacionado com aplicações de inseticidas carbamatos, organofosforados e piretroides. Conforme avaliações feita por Sarto (2009), inseticidas a base de metamidofós e abamectina são tóxicos para *A. mellifera*. Segundo Carvalho et al. (2009), os inseticidas piretroides a base de abamectina, metidationa e tiametoxam são

extremamente tóxicos para adultos de *A. mellifera*, por contato com superfícies contaminadas, ingeridas na alimentação e pulverizadas diretamente sobre os insetos, reduzindo sua duração de vida.

Baptista et al. (2009) avaliaram a toxicidade de inseticidas e acaricidas usados em citros, sobre operárias de *A. mellifera* Linnaeus africanizadas, através da pulverização, contato em superfícies tratadas com folhas de citros e em placas de Petri e através da contaminação da dieta, aplicando as doses máximas indicada para a cultura. O inseticida em todas as formas de aplicação se mostrou altamente tóxico às operárias de *A. mellifera* africanizadas. Já os acaricidas, o fungicida enxofre e os inseticidas que regulam o crescimento não apresentaram efeito tóxico para as *A. mellifera* africanizada.

Estudos feitos por Efrom et al. (2012), testaram os efeitos colaterais de pesticidas: Rotenat CE, Biopiról 7M, Pironat, Netuneem, neem orgânico e enxofre de cal, em diferentes doses, utilizado em sistemas orgânicos de produção de *A. mellifera* africanizada. De todos os produtos testados, somente o Rotenat CE pela ingestão e o enxofre de cal por via de contato afetaram a sobrevivência das *A. mellifera*, os demais produtos não causaram mortalidade.

Gomes (2017) concluiu em seu trabalho que inseticidas comerciais como tiametoxam, glifosato e o mancozeb são tóxicos as abelhas *A. mellifera* abatendo parte destas. Já as abelhas que sobrevivem, depois de expostas a estes inseticidas, apresentam alterações na sua capacidade de voo, interferindo diretamente no forrageamento e no equilíbrio da colônia.

Foram avaliados os efeitos do inseticida neonicotinoide em dose comercial e sua ação isolada e em conjunto com fungicida estrobilurina, incorporado à pasta candi de *A. mellifera* africanizada na fase larval. A dieta foi contaminada com 0,2364 ng de inseticida/larva e 23,63 ng fungicida/larva. As larvas de *A. mellifera* expostas a ambos os tratamentos apontaram alterações no comportamento e redução na longevidade das larvas, principalmente quando foram expostas ao inseticida isoladamente. Além disso, as larvas apresentaram efeitos posteriores à emergência, favorecendo a redução da população das abelhas (TADEI et al., 2019).

Houve uma redução significativa na produção de alimentos, após a desordem do colapso de colônias, dessa forma a importância das abelhas *A.*

mellifera para manter a sustentabilidade da agricultura é evidente, pois grande parte da nossa alimentação procede da polinização delas (GALLAI et al. 2009; IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012).

Em estudos desenvolvidos no Brasil com Pires et al. (2016), utilizando exemplares de *A. mellifera* africanizadas, da qual as colônias indicavam enfraquecimento e queda repentina na produção foram feitos estudos abordando agrotóxicos, parasitas e patógenos. Os dados da presença de patógenos e das características analisadas, não apontaram resultados de que a mortalidade registrada nos apiários brasileiros estivesse associada à DCC. Os referidos autores apontaram que os agrotóxicos foram os principais responsáveis por esse colapso causando a mortalidade das abelhas *A. mellifera*, e ainda informaram que são necessárias mais pesquisas neste sentido.

A mortalidade das abelhas no Brasil se difere do CCD, fenômeno registrado nos EUA em 2006, pois não apresenta os sintomas característicos do CCD, como a desorganização das colmeias, lixos, abandono ou diminuição dos indivíduos, sem a existência de abelhas mortas, mas com redução dos indivíduos, tornando inviável a subsistência da colmeia (COLMEIA VIVA, 2016).

Desta forma, algumas técnicas são utilizadas para reduzir ou evitar as consequências da DCC e da mortalidade das abelhas causada pelos produtos fitossanitários sintéticos. Dentre essas, está a sensibilização para que os inseticidas sintéticos sejam utilizados de forma correta, sendo associados a produtos de controle biológico que é uma alternativa viável para controlar insetos em áreas onde ocorre a polinização pelas abelhas, além da recuperação de áreas degradadas através de reflorestamento e preservação de cursos e nascentes de água. O controle biológico é considerado como mais seguro, provocando pouco ou nenhum impacto para o meio ambiente (MALASPINA et al., 2008; OLIVEIRA, 2015).

2.5 CONTROLE BIOLÓGICO COM FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

O controle biológico é um fenômeno natural, pois quase todas as espécies possuem inimigos naturais que auxiliam na regulação de suas

populações e também é considerada uma técnica com função de controlar insetos-praga através de seus inimigos naturais, o qual se baseia na utilização de parasitoides, predadores e entomopatógenos, que são os fungos, bactérias, vírus e nematoides (ALVES, 1998; MELO; AZEVEDO, 2000; GALLO et al., 2002; PARRA et al., 2002).

Esse tipo de controle atua em harmonia com a natureza, sendo mais seguro ao meio ambiente, quando comparado ao controle químico. O controle biológico é capaz de reduzir a população de insetos-praga e conservar os inimigos naturais e outros organismos não-alvos presentes no ecossistema (ALVES, 1998; MELO; AZEVEDO, 2000; GALLO et al., 2002; PARRA et al., 2002).

Outro benefício do controle biológico é a qualidade dos alimentos, tornando-os mais saudáveis. Esse controle introduz os inimigos naturais no ambiente, causando equilíbrio natural (ALVES, 1998; MELO; AZEVEDO, 2000; GALLO et al., 2002; PARRA et al., 2002).

Os fungos entomopatogênicos apresentam benefícios quanto ao seu uso, como multiplicação, dispersão e produção no meio ambiente, especificidade em relação a outros agentes, resultados secundários, sendo não poluentes e não tóxicos ao ambiente (ALVES, 1998). No entanto, são essenciais e necessários estudos para testar possíveis impactos a organismos não-alvos, como às abelhas *A. mellifera*.

A contaminação do inseto pelo fungo depende de uma cadeia de eventos mecânicos e bioquímicos sincronizados e só acontece quando possui condições favoráveis de temperatura, umidade, oxigênio, nutrição e pH. Através do contato, os conídios do fungo aderem e germinam sobre a cutícula do inseto, fazendo a penetração. Posteriormente as hifas, que atravessam a cutícula do hospedeiro, engrossam e se ramificam, multiplicando-se na parte interna do inseto, contendo massa hifal em sua hemocele, originando a colonização (ALVES, 1998; ORLANDELLI; PAMPHILE, 2011).

Os fungos colonizam os insetos penetrando em sua cutícula. Dentro dos insetos, eles rapidamente se multiplicam e absorvem os nutrientes dos insetos, fazendo com que eles parem de se alimentar e fiquem lentos. Em seguida, os fungos produzem toxinas que destroem as células hospedeiras,

dando início ao processo de colonização e, por conseguinte, levando os insetos à morte (GRAVENA, 2000; BUENO et al, 2015).

Os fungos que emergem do corpo dos insetos para a produção de esporos podem ser disseminados pela chuva, pelo vento ou através do contato com outros insetos. O fungo entomopatogênico possui vantagens em relação aos outros entomopatógenos, pois ele dispõe de um largo espectro, podendo afetar uma grande quantidade de insetos fitófagos e aquáticos em todos os estágios de desenvolvimento de seu hospedeiro (ALVES, 1998; GRAVENA, 2000; BUENO et al, 2015).

Os fungos mais utilizados para o controle de insetos no Brasil são *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, 1912 e *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok., devido a incidência de ambos em condições naturais. O fungo *B. bassiana* é uma das espécies mais estudadas e utilizadas no mundo para o controle microbiano, provável que seja devido a sua ocorrência generalizada e a grande variedade de hospedeiros, sendo o mais frequente em insetos, é conhecido como fungo branco muscardino porque os insetos infectados se tornam brancos (ALVES, 1998).

A lista de pragas sobre as quais esse fungo atua é extensa, mas infelizmente esse isolado de *B. bassiana* (Bals.) Vuill, 1912 não foi seletivo a inimigos naturais (ALVES, 1998; GRAVENA, 2000). Por isso, é de grande relevância que sejam feitos novos estudos para testar novos isolados.

O fungo *M. anisopliae* é um importante fungo que vem sendo usado no Brasil, ele tem a capacidade de controlar uma larga faixa de insetos praga. Este entomopatógeno se destaca por ser de fácil aplicação no campo e possuir baixo risco para o ambiente (ORLANDELLI; PAMPHILE, 2011). É utilizado no controle de cigarrinhas das pastagens e cana de açúcar (ALVES, 1998; GRAVENA, 2000; SILVA et al., 2010). A utilização de fungos entomopatogênicos é um recurso importante para o manejo de insetos pragas, sendo útil tanto para cultivos orgânicos quanto para cultivos convencionais (ALVES, 1998; GRAVENA, 2000).

2.6 SELETIVIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS À *Apis mellifera*

A seletividade dos agentes biológicos de controle é estabelecida com sucesso quando os entomopatógenos controlam o inseto considerado praga e não impactam nos insetos não-alvos como as abelhas (SILVA, 2014; YAMAMOTO; BASSANESI, 2003).

O controle biológico encontrava alguns problemas, como a falta de estudos das relações entre hospedeiro e inimigo natural, fisiologia e nutrição dos entomopatógenos, e falta de análises de impactos ambientais sobre os possíveis danos que podem causar aos insetos não-alvos (PARRA et al., 2002). Devido a estes problemas, vários estudiosos direcionaram suas pesquisas para a área de seletividade de produtos biológicos a inimigos naturais e/ou polinizadores.

Hokkanen et al. (2003) avaliaram os impactos de *M. anisopliae* em zangões de *Bombus lucorum* L. (1758) e *Bombus lapidarius* L. (1758) ambos da ordem Hymenoptera e família Apidae, através de diferentes métodos de aplicação, como pulverização e contato direto em abelhas. Os autores relataram que o fungo *M. anisopliae* (10^7 conídios.mL⁻¹) apresentou baixa toxicidade as abelhas, já na concentração mais alta (10^8 conídios.mL⁻¹), as abelhas foram suscetíveis ao fungo *M. anisopliae*.

Três isolados de *B. bassiana* foram avaliados quanto ao potencial de controle de *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) e a seletividade a *A. mellifera* (Al Mazra'awi et al., 2006). Os três isolados [ARSEF 3769 (ARK), NY (NY; BB008, SCPFRC, Londres, Ontário, Canadá) e o isolado comercial GHA (BotaniGard WP; Emerald BioAgriculture, Salt Lake City, UT)], não causaram mortalidade nas abelhas e controlaram com eficiência o hemíptero.

O fungo *B. bassiana* na concentração de 10^5 conídios.ml⁻¹ causou mortalidade das operárias de *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) quando aplicado em abelhas recém-emergidas (CONCEIÇÃO et al., 2014). Existem poucos trabalhos realizados envolvendo fungos entomopatogênicos comerciais sobre abelhas *A. mellifera* africanizada. No entanto, é necessário avaliar se esses agentes de controle biológico podem causar algum efeito negativo sobre as abelhas, pois frequentemente surgem novas formulações e isolados no comércio e é fundamental a segurança e

seletividade a estas abelhas. Kanga, Jones e James (2003), avaliaram o potencial do fungo *M. anisopliae* para controlar o ácaro parasita *Varroa destructor*, em colônias de *Apis mellifera* (L.) adultas. O fungo *M. anisopliae* não causou mortalidade nas abelhas e controlou 98% dos ácaros.

Hamiduzzaman et al. (2012) fizeram testes para avaliar o controle de ácaro *V. destructor* e a seletividade de *A. mellifera* a três isolados dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Clonostachys rosea*. O teste foi feito a partir da imersão do ácaro na solução contendo esporos, logo após foram colocados em contato com as abelhas. Os fungos *B. bassiana* e *C. rosea* controlaram a ácaro *V. destructor*, mas causaram 59% de mortalidade às abelhas. Já o fungo *M. anisopliae* foi eficiente no controle do ácaro e causou 24% de mortalidade a *A. mellifera*.

Potrich et al. (2018) avaliaram os efeitos de fungos entomopatogênicos utilizados comercialmente *M. anisopliae* E9 (10^9 conídios.mL⁻¹) e *B. bassiana* PL63 (10^8 conídios.mL⁻¹) sobre abelhas *A. mellifera* africanizadas através da pulverização direta, pulverização em superfície lisa, pulverização em folhas de soja e por ingestão. Os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* diminuíram a sobrevivência de *A. mellifera*, quando comparados com a testemunha.

O controle de pragas utilizando agentes entomopatogênicos é utilizado com o intuito de diminuir a utilização de agroquímicos, com a vantagem de não serem menos tóxicos ao ecossistema. Estes agentes podem ser usados por vários períodos gerando baixos impactos ambientais. Entretanto, é fundamental que sejam feitos estudos para avaliar a toxicidade de fungos entomopatogênicos e a seletividade aos organismos não-alvos como as abelhas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Controle Biológico I e II, e na Unidade de Ensino e Pesquisa Apicultura (UNEPE – APICULTURA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR – DV). Foram realizados dois bioensaios para avaliar os possíveis impactos dos entomopatógenos *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre operárias forrageiras de *A. mellifera* africanizada, através do contato com folhas de eucalipto e em placa de Petri. Após 24 horas do contato em superfície vítrea as operárias foram submetidas aos testes de voo e de retomada de voo. Esses testes tem a finalidade de avaliar se as abelhas possuem a capacidade de realizar o voo após entrar em contato com fungos entomopatogênicos que são utilizados no controle de insetos praga.

3.1 OBTENÇÃO DOS FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS

Para os tratamentos foram utilizados os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* (0,37g em 200 mL de água) e *M. anisopliae* (1,7g em 200 mL de água), ambos na concentração recomendada pelo fabricante de $1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹. Estes foram disponibilizados pela empresa Simbiose em formulações comerciais, pois estes já são empregados em diversas culturas no controle de insetos-praga. A testemunha foi composta por água destilada esterilizada contendo Tween 80® (0,01%).

3.2 OBTENÇÃO DAS ABELHAS *Apis mellifera*

As operárias forrageiras de *A. mellifera* foram obtidas através de colmeias procedentes da UNEPE – APICULTURA inserida na UTFPR-DV. Foi utilizado operárias forrageiras, devido a estas saírem frequentemente da colmeia para coletar polén, néctar e água e algumas vezes voltarem para a colmeia com algum agente possivelmente contaminante.

As abelhas foram capturadas na entrada da colmeia quando chegavam do forrageamento, e foram engaioladas em tubos de PVC (Policloreto de vinilo)

(20 cm de altura × 15 cm de Ø). Posteriormente, os tubos de PVC contendo as abelhas foram vedados com *voile* e transportados para o laboratório de controle biológico I, onde foram submetidas aos testes. Para os experimentos foram utilizadas 600 abelhas.

3.3 BIOENSAIO 1: EFEITO DE *B. bassiana* E *M. anisopliae* SOBRE OPERÁRIAS FORRAGEIRAS DE *A. mellifera* POR CONTATO, EM FOLHAS DE EUCALIPTO

Neste bioensaio foram utilizadas folhas de eucalipto da espécie *Eucalyptus dunnii*. As folhas de eucalipto em perfeitas condições sanitárias, sem tratamento fitossanitário, foram coletadas na UNEPE Povoamentos Florestais localizada na UTFPR- DV e devidamente higienizadas e esterilizadas com hipoclorito de sódio (NaClO). Em seguida, elas foram imersas por 5 segundos no tratamento contendo os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* ou *M. anisopliae*, e na testemunha. Na sequência, foram colocadas em câmara de fluxo laminar horizontal para evaporação completa da água, conforme metodologia adaptada de Potrich et al.,2018.

As folhas contendo os tratamentos foram dispostas em caixas gerbox, onde em seguida, as operárias de *A. mellifera* foram anestesiadas com CO₂ por 120 segundos e, colocadas em contato com as folhas por duas horas, totalizando 10 abelhas em cada caixa. Depois foram transferidas para gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de Ø), esterilizadas, cobertas com tecido *voile*. Em cima do tecido foi fornecido algodão embebido em água destilada esterilizada, que foi umedecido periodicamente para evitar ressecamento e como alimento foi fornecida pasta Cândi (açúcar de confeitaria e mel) (FIGURA 1). Cada tratamento foi composto por cinco repetições, com 20 abelhas por repetição. O procedimento foi repetido para cada tratamento contendo os fungos e com a testemunha.

Figura 1- a) Folhas de eucalipto imersas em solução contendo os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. b) Secagem das folhas em câmara de fluxo laminar unidirecional. c) Operárias *A. mellifera* africanizada em contato com as folhas tratadas com os fungos entomopatogênicos. d)

Operárias *A. mellifera* africanizada alocadas em gaiolas de PVC na sala de criação climatizada ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).



Fonte: Autora, 2019.

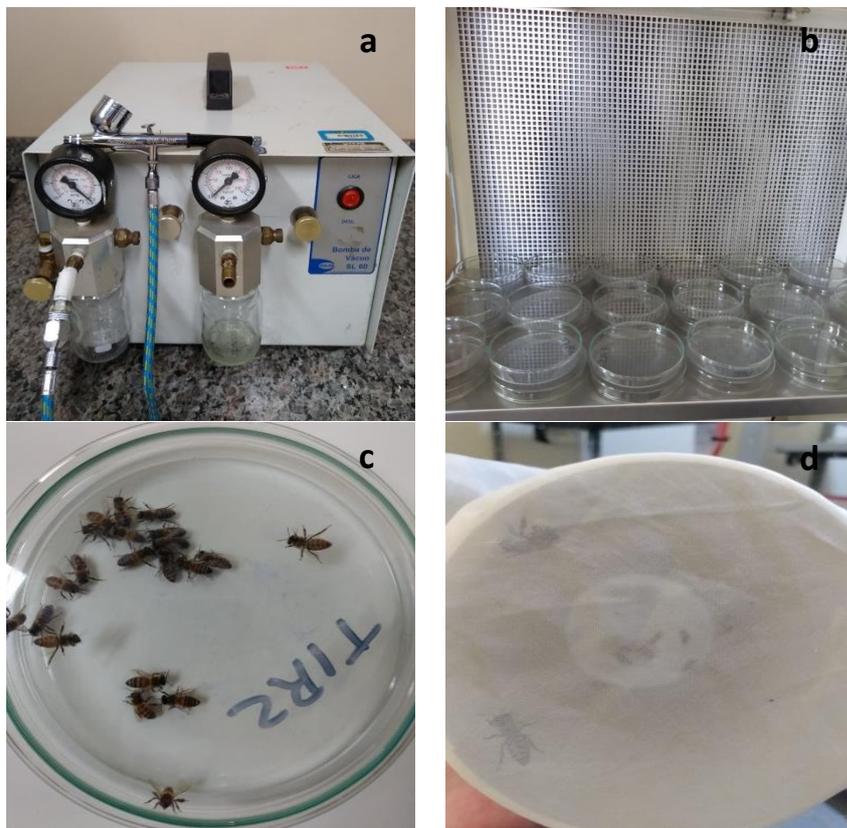
As gaiolas contendo as operárias foram acondicionadas em sala climatizada ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas). A mortalidade/sobrevivência das operárias foi avaliada nas seguintes horas após a montagem do experimento 1, 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 72 e a partir desta foi avaliado a cada 24 horas até completar 240 horas totais do experimento. Foram consideradas mortas as abelhas eu não possuíam mais movimentos.

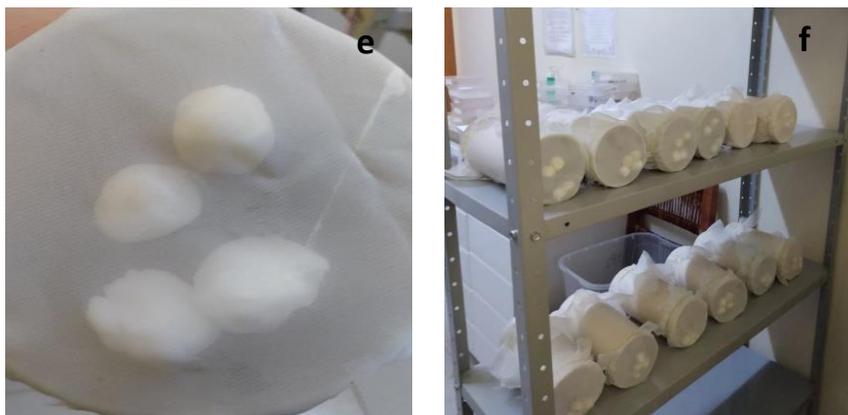
3.4 BIOENSAIO 2: EFEITO DE *B. bassiana* E *M. anisopliae* SOBRE OPERÁRIAS DE *A. mellifera* POR CONTATO, EM PLACAS DE PETRI

Foram pulverizados 290 μL dos tratamentos em placas de Petri, utilizando-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma® acoplado a uma bomba Fanem® de pressão constante ($1,2 \text{ kgf/cm}^2$). Em seguida, as placas foram dispostas em câmara de fluxo laminar horizontal para a evaporação completa da água.

As operárias de *A. mellifera* foram anestesiadas e colocadas no interior de cada placa de Petri, onde permaneceram por duas horas. Em seguida, as operárias foram transferidas para as gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de Ø), que foram acondicionadas e avaliadas conforme os procedimentos descritos no item 3.3, conforme metodologia adaptada de Potrich et al., 2018. (FIGURA 2) Cada tratamento foi composto por cinco repetições, com 20 abelhas por repetição.

Figura 2- a) Bomba de pressão com aerógrafo acoplado utilizado para pulverização dos tratamentos nas placas de Petri. b) Secagem das placas em câmara de fluxo laminar unidirecional. c) Operárias de *A. mellifera* africanizada em contato com as placas de Petri que receberam os tratamentos com os fungos entomopatogênicos e testemunha, durante duas horas. d) Operárias de *A. mellifera* africanizada alocadas em gaiolas de PVC e) Gaiolas de PVC contendo pasta Cândi (a cima) e dois algodões embebido em água destilada (abaixo). f) Operárias *A. mellifera* africanizada alocadas em gaiolas de PVC na sala de criação climatizada ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).





Fonte: Autora, 2019.

3.5 BIOENSAIO 3: ANÁLISE DE VOO E RETOMADA DE VOO

Essa metodologia foi aplicada e adaptada a partir da metodologia de Tomé et al. (2015). Foram realizados dois diferentes testes com as abelhas dos bioensaios por contato em placa de Petri.

Os testes foram realizados 24 horas após a exposição das operárias de *A. mellifera* africanizadas aos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* e sobre a testemunha. Foram utilizadas 10 abelhas de forma aleatória por tratamento para cada teste. O experimento ocorreu em uma sala escura. O primeiro teste foi análise do voo, verticalmente, das abelhas em direção a uma fonte de luz.

As operárias foram colocadas uma por vez, na base da torre de voo com o auxílio de uma pinça, na sequencia foi estabelecido um limite de tempo de 60 segundos (avaliado com auxílio de cronômetro) para avaliar a altura máxima obtida pelas operárias. Elas foram soltas, uma por vez, na base da torre de voo (0,35 m x 0,35 m de largura e 1,05 m de altura, aberta na parte superior, contendo uma luminária fluorescente instalada 10 cm acima da torre) (Figura 3).

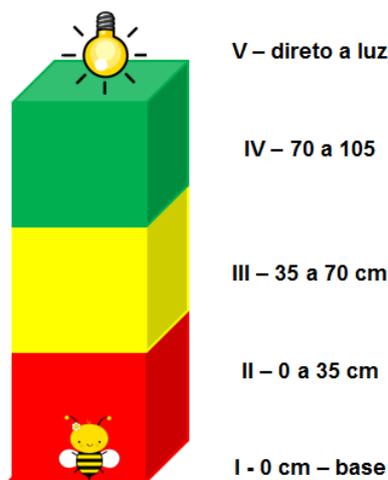
Figura 3 – Torre de Voo de 1,05 m de altura utilizada para teste de Voo e Retomada de Voo de *Apis mellifera*, contendo uma luminária ajustada na parte superior da torre.



Fonte: Autora, 2019.

A torre de voo possui cinco níveis de altura: I, II, III, IV e V. O nível I demonstra que não ocorreu voo, isto é, a abelha permaneceu na base da torre com 0 cm. O nível II que as abelhas voaram de 0 cm até 35 cm de altura. O nível III que elas voaram de 35 até 70 cm de altura. O nível IV que elas voaram entre 70 e 105 cm de altura e por fim o nível V se as abelhas voaram e alcançaram à fonte de luz a 105 cm de altura (Figura 4). No caso das abelhas que caminharam durante o teste, foram consideradas que estas voaram até o estrato.

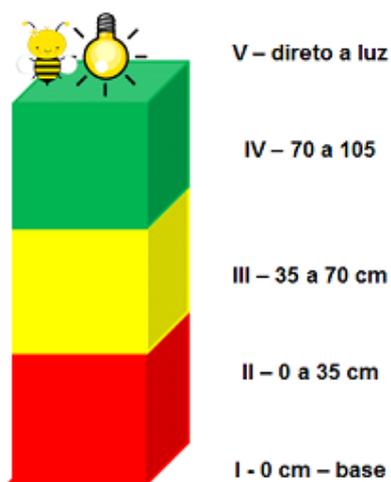
Figura 4 – Níveis de Altura da Torre de Voo, análise de voo, baseado em Tomé et al. (2015).



Fonte: Sampaio, 2019¹.

Simultaneamente a análise de voo, foi realizado o teste de retomada de voo. Para isto, foram utilizadas 10 operárias de cada tratamento, distintas das utilizadas no teste de voo. As operárias foram soltas, uma por vez, da parte superior da torre, estratificada de tal maneira: O nível I demonstra que não ocorreu voo, isto é, a abelha caiu direto na base da torre com 0 cm. O nível II que as abelhas retomaram o voo de 0 cm até 35 cm de altura. O nível III que elas retomaram o voo aterrissando de 35 até 70 cm. O nível IV que elas retomaram o voo entre 70 e 105 cm de altura e por fim o nível V se não houve a queda e as abelhas voaram diretamente à fonte de luz (Figura 5).

Figura 5 – Níveis de Altura da Torre de Voo, análise de retomada de voo, baseado em Tomé et al. (2015).



Fonte: Sampaio, 2019².

¹ Amanda Roberta Sampaio. Engenheira Agrônoma. Informação pessoal.

² Amanda Roberta Sampaio. Engenheira Agrônoma. Informação pessoal.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

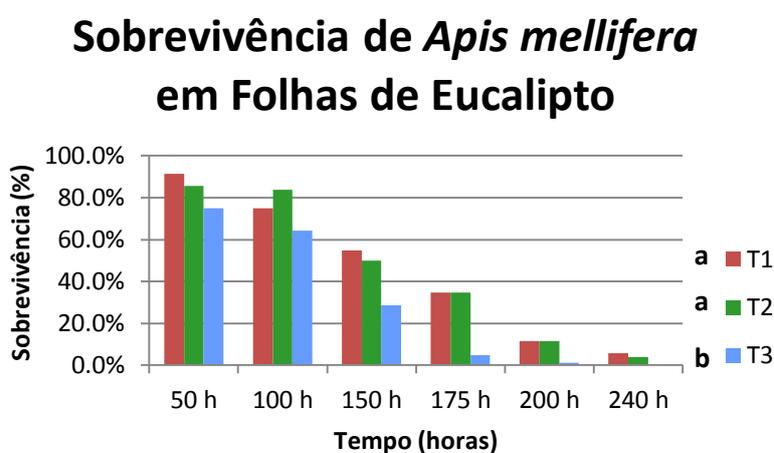
Para os bioensaios com os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* através do contato em folhas de eucalipto e em placas de Petri, foram realizados os testes de análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, eles foram comparados pelo teste de Log'Rank, com o auxílio do software estatístico R® (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2018). Na sequência foi realizada a análise de voo e retomada de voo com as abelhas sobreviventes pelos Modelos Lineares Generalizados, regressão ordinal, através do teste de teste de Wald (qui-quadrado), com o auxílio do software estatístico R®.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 BIOENSAIO 1: EFEITO DE *B. bassiana* E *M. anisopliae* SOBRE OPERÁRIAS DE *A. mellifera* POR CONTATO, EM FOLHAS DE EUCALIPTO

O fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, na formulação comercial utilizada, quando aplicado em folhas de eucalipto, reduziu a sobrevivência das operárias de *A. mellifera* africanizadas em 71,5%, depois de 150 horas de experimento. O fungo *B. bassiana* reduziu a sobrevivência em 50% nas 150 horas posteriores ao contato com os tratamentos, enquanto a testemunha reduziu em 45,3% essa sobrevivência (Figura 6, Figura 7).

Figura 6 – Sobrevivência de operárias de *Apis mellifera* africanizadas quando em contato com folhas de eucalipto contendo os tratamentos testemunha (T1) e os fungos *B. bassiana* (T2) e *M. anisopliae* (T3).

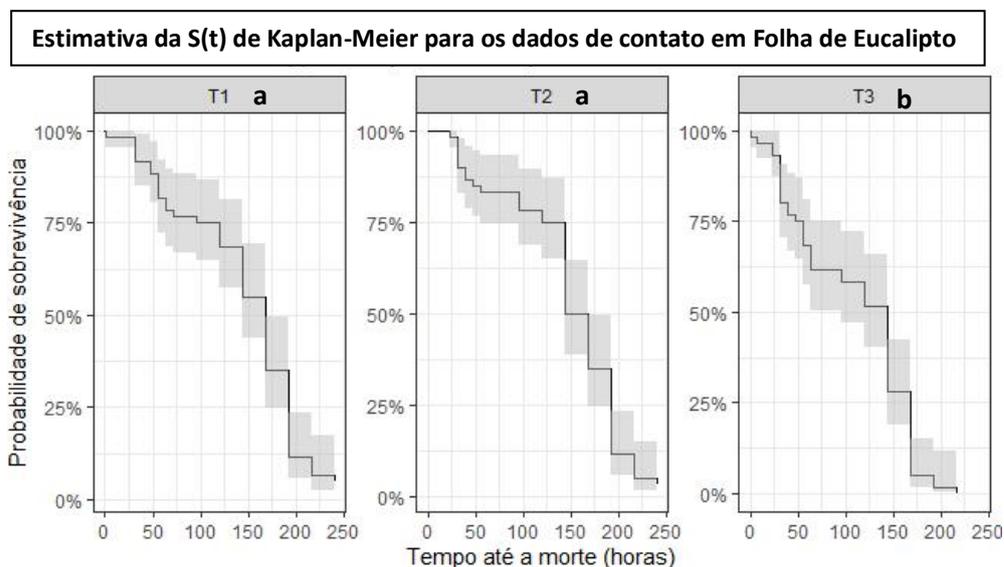


Legenda: T1 – Testemunha; T2 – *Beauveria Bassiana* e T3 – *Metarhizium anisopliae*.

Fonte: Autora, 2019.

Com 216 horas de experimento constatou-se que nenhum indivíduo sobreviveu ao contato em folhas de eucalipto tratadas com o fungo *M. anisopliae*. Já as abelhas em contato com o fungo *B. bassiana* e as provenientes do tratamento testemunha permaneceram vivas até o final do experimento. No bioensaio com a testemunha, sobreviveram 5,8% das abelhas e 3,9% em contato com fungo *B. bassiana*.

Figura 7 – Níveis de sobrevivência de Kaplan-Meier adequada ao tempo em horas, posteriormente ao contato de operárias de *Apis mellifera* africanizadas sobre folhas de eucalipto contendo os tratamentos testemunha (T1) e os fungos *B. bassiana* (T2) e *M. anisopliae* (T3).



Legenda: T1 – Testemunha; T2 – *Beauveria Bassiana* e T3 – *Metarhizium anisopliae*.

Fonte: Autora, 2019.

Operárias recém-emergidas de *A. mellifera* africanizada em contato com folhas de eucalipto tratadas com *B. bassiana* e *M. anisopliae* (COLOMBO, 2019) apresentaram resultados semelhantes aos observados nesse experimento. O fungo *M. anisopliae* causou efeito negativo no referido trabalho observado, reduziu em 90% a sobrevivência das abelhas recém-emergidas após o contato com as folhas de eucalipto, enquanto o fungo *B. bassiana* causou uma redução de 60% e a testemunha e 40%, na sobrevivência das abelhas (COLOMBO, 2019). Destaca-se que tanto no trabalho de Colombo (2019) quanto no presente trabalho os fungos entomopatogênicos foram provenientes da mesma empresa de produtos biológicos.

Hokkanen et al. (2003) avaliaram os impactos de *M. anisopliae* em zangões de *Bombus lucorum* L. (1758) e *Bombus lapidarius* L. (1758) ambos da ordem Hymenoptera e família Apidae, através de diferentes métodos de aplicação, como pulverização e contato direto em abelhas. Os autores relataram que em ambos os métodos de aplicação, o fungo *M. anisopliae* (10^7

conídios.mL⁻¹) apresentou baixa toxicidade as abelhas, já na concentração mais alta (10⁸ conídios.mL⁻¹), as abelhas foram suscetíveis ao fungo *M. anisopliae*.

Já Potrich et al. (2018) avaliaram os efeitos dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre operárias recém emergidas de *A. mellifera* quando em contato com folhas de soja e verificaram que o fungo *B. bassiana* reduziu a sobrevivência dessas operárias quando comparado a *M. anisopliae* e à testemunha. Esses resultados não corroboram com os observados no presente trabalho. Entretanto, no trabalho de Potrich et al. (2018) foram utilizados fungos entomopatogênicos oriundos de outra empresa de produtos biológicos, além disso, os testes foram realizados com operárias recém-emergidas, diferindo do presente trabalho.

Quando verificamos o impacto dos fungos entomopatogênicos sobre *A. mellifera* e o impacto dos inseticidas químicos sintéticos, observa-se que os fungos são mais seletivos e mais seguros. Um exemplo é o inseticida químico sintético acefato que na concentração 0,075 mL⁻¹ causou mortalidade em 90% das operárias de *A. mellifera* africanizada, 20 horas após as mesmas entrarem em contato com o produto (BAPTISTA et al., 2009).

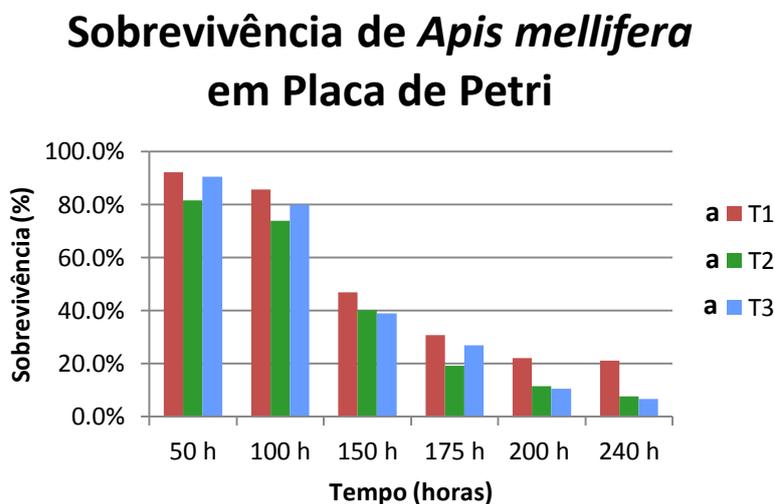
Portanto, a redução da sobrevivência das abelhas em contato com o fungo entomopatogênico *M. anisopliae* e a redução utilizando os inseticidas químicos sintéticos, verifica-se que o fungo causa uma redução discreta. Sugere-se que estes fungos sejam testados a campo, através de outros métodos de aplicação.

4.2 BIOENSAIO 2: EFEITO DE *B. bassiana* E *M. anisopliae* SOBRE OPERÁRIAS DE *A. mellifera* POR CONTATO, EM PLACAS DE PETRI

Os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, pulverizados em placa de Petri, não influenciaram negativamente a sobrevivência das operárias de *A. mellifera* africanizada. Com 150 horas de experimento verificou-se que 46,9% das abelhas oriundas da testemunha estavam vivas, paralelamente 40,1% provenientes do tratamento com o fungo

B. bassiana e 39,1% das abelhas provenientes do tratamento com o fungo *M. anisopliae* também estavam vivas (Figuras 8 e 9).

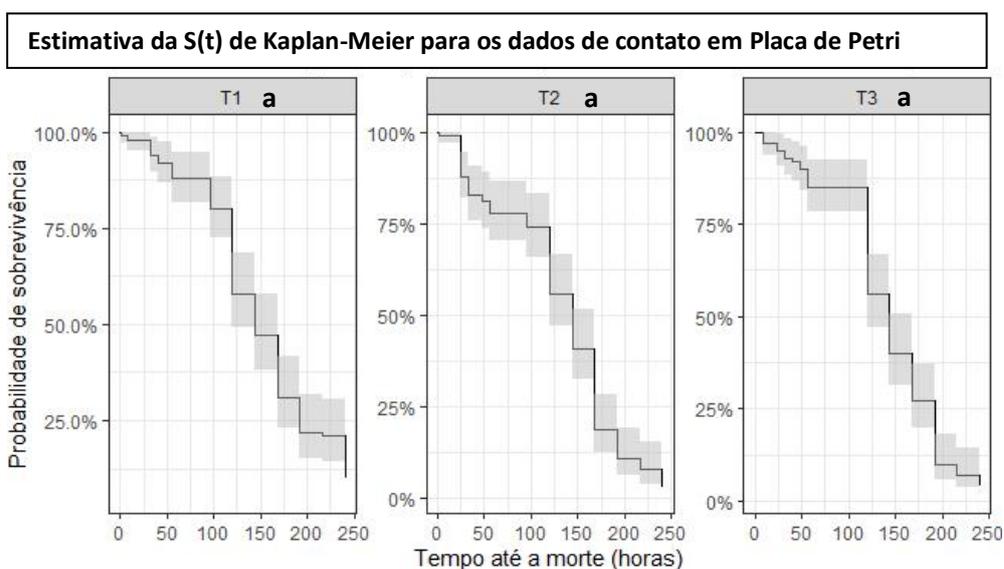
Figura 8 – Sobrevivência de operárias de *Apis mellifera* africanizadas sobre placas de Petri contendo os tratamentos testemunha (T1) e os fungos *B. bassiana* (T2) e *M. anisopliae* (T3).



Legenda: T1 – Testemunha; T2 – *Beauveria Bassiana* e T3 – *Metarhizium anisopliae*.

Fonte: Autora, 2019.

Figura 9 – Níveis de sobrevivência de Kaplan-Meier adequada ao tempo em horas, posteriormente ao contato de operárias de *Apis mellifera* africanizada em placas de Petri contendo os tratamentos testemunha (T1) e os fungos *B. bassiana* (T2) e *M. anisopliae* (T3).



Legenda: T1 – Testemunha; T2 – *Beauveria Bassiana* e T3 – *Metarhizium anisopliae*.

Fonte: Autora, 2019.

Estudos realizados utilizando os fungos *B. bassiana* (Boveril® WP) e *M. anisopliae* (Metarril® WP) sobre operárias recém-emergidas de *A. mellifera* africanizada através do contato em placa de Petri demonstraram que estes isolados reduziram a sobrevivência dessas abelhas. O fungo *B. bassiana* causou tempo letal médio (TL₅₀) de 97,3 horas para ação sobre *A. mellifera*, enquanto *M. anisopliae* apresentou TL₅₀ 128,0 horas, contra 197,8 horas da testemunha (POTRICH et al., 2018).

Resultados similares ao obtido no presente trabalho foram observados por Colombo (2019), quando aplicado o fungo *M. anisopliae* sobre placas de Petri e alocadas operárias recém-emergidas de *A. mellifera* para contato. As operárias recém-emergidas que entraram em contato com este fungo apresentaram menor taxa de sobrevivência (73,4 horas) quando comparado à testemunha (90 horas) e ao fungo *B. bassiana* (95 horas).

Akkoç, Karaca e Karaca (2019) obtiveram resultados semelhantes ao deste trabalho. Os autores utilizaram os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* (volume de 5,0 µL) em placa de Petri e misturados em pasta Cândi e submeteram a *A. mellifera* africanizada e verificaram que apenas em contato com placa de Petri e apenas o fungo *M. anisopliae* afetou a sobrevivência das abelhas, porém menos de 30%, depois de 24 horas.

Entretanto, os resultados aqui obtidos com a toxicidade de inseticidas químicos sintético a *A. mellifera*, verifica-se que tiametoxam (classe dos neonicotinoides), na concentração de 0,2g/L, quando pulverizado em placa de Petri, provocou alta mortalidade nas abelhas. Em menos que 3 horas o inseticida reduziu em 45% a sobrevivência das abelhas e em 24 horas todas às abelhas já estavam mortas (GOMES, 2017).

4.3 BIOENSAIO 3: ANÁLISE DE VOO E RETOMADA DE VOO

Neste bioensaio os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* não afetaram a capacidade de desempenho do voo e tampouco a retomada deste nas operárias de *A. mellifera* africanizada. As abelhas expostas

aos fungos foram capazes de atingir a fonte de luz nas duas metodologias de avaliação de voo (Tabela 1).

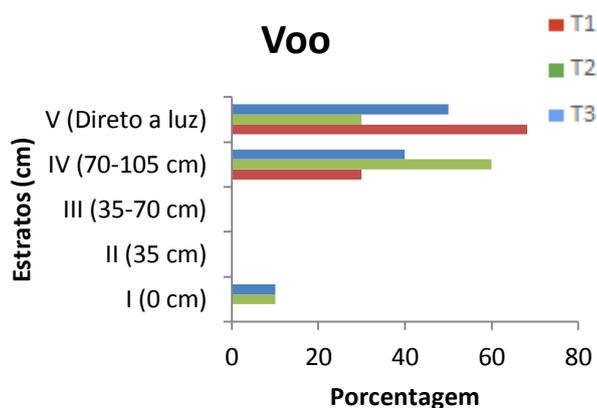
Tabela 1 – Análise de voo e retomada de voo pelo teste de Wald (qui-quadrado), 24 horas após o contato de operárias de *Apis mellifera* africanizada com placas de Petri e folhas de eucalipto contendo os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* e a testemunha.

VOO		RETOMADA DO VOO	
Tratamentos	Médias	Tratamentos	Médias
T1- Testemunha	2,296 a	T1- Testemunha	0,613 a
T2- <i>B. bassiana</i>	0,623 a	T2- <i>B. bassiana</i>	0,541 a
T3- <i>M. anisopliae</i>	1,326 a	T3- <i>M. anisopliae</i>	0,488 a

Fonte: Autora, 2019.

No teste de voo das operárias de *A. mellifera* expostas ao tratamento utilizando o fungo *B. bassiana* (T2) 30% voaram diretamente até a luz (estrato V), 60% voaram até o estrato IV (entre 70 e 105 cm) e 10% não alçaram voo e permaneceram no estrato I (base da torre). As operárias em contato com o fungo *M. anisopliae*, 50% voaram diretamente à fonte de luz (estrato V), 40% voaram ao estrato IV (entre 70 e 105 cm) e somente 10% das abelhas permaneceram no estrato I (base da torre) (Figura 10). Já as operárias oriundas da testemunha (T1) 70% voaram diretamente à luz (estrato V) e 30% voaram até o estrato IV (entre 70 e 105 cm).

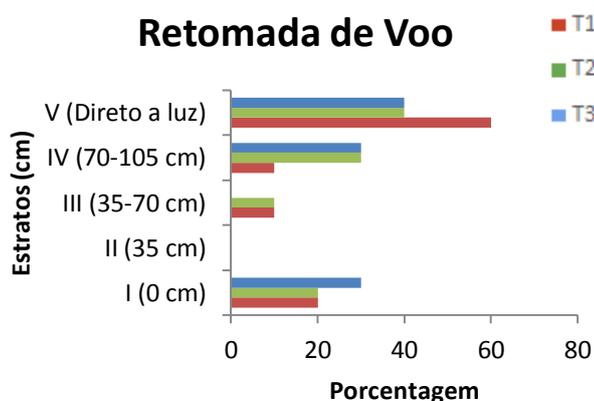
Figura 10 – Porcentagem de operárias de *A. mellifera* em diferentes estratos conforme análise de Voo.



Fonte: Autora, 2019.

No teste de retomada de voo (queda) 40% das operárias de *A. mellifera* oriundas do tratamento contendo o fungo *B. bassiana* (T2) retomaram o voo diretamente a luz (estrato V), 30% das operárias retomaram voo no estrato IV (entre 70 e 105 cm), 10% das retomaram voo no estrato III (entre 35 e 70 cm) e 20% delas não retomaram voo e caíram diretamente ao estrato I (base da torre). Das operárias de expostas ao fungo *M. anisopliae*, 40% retomaram o voo diretamente a fonte de luz (estrato V), 30% retomaram voo no estrato IV (entre 70 e 105 cm) e 30% não retomaram voo e caíram na base da torre (estrato I) (Figura 11). Na testemunha (T1) 60% das operárias retomaram o voo instantaneamente até a fonte de luz, 10% retomaram o voo no estrato IV (entre 70 e 105 cm), 10% retomaram voo até o estrato III (entre 35 e 70 cm) e 20% não retomaram o voo e caíram diretamente ao estrato I (base da torre).

Figura 11 – Porcentagem de operárias de *A. mellifera* em diferentes estratos conforme análise de Retomada de Voo.



Fonte: Autora, 2019.

Utilizando a mesma metodologia empregada no presente trabalho, Tomé et al. (2015) analisaram o voo e a retomada de voo de abelhas sem ferrão das espécies *Partamona helleri* (Friese, 1900) e *Scaptotrigona xanthotrica* (Moure, 1950) (Apidae: Meliponina) quando submetidas aos inseticidas químicos sintéticos a base de espinosade e imidaclopride e verificaram que estes afetaram significativamente a capacidade e a retomada do voo. As abelhas expostas aos respectivos inseticidas não foram capazes de

alçar voo e chegar até a fonte de luz, e conseqüentemente, podendo afetar a atividade de forrageio das operárias.

Produtos a base de imidaclopride reduziram o voo das operárias forrageiras de *A. mellifera*, quando foram testados através da alimentação com pasta Cândi ($24 \mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$). Esta forma de aplicação dos produtos difere da forma de exposição presente nesse trabalho, porém verifica-se que o produto químico sintético afetou significativamente as funções de forrageamento fora da colmeia (DECOURTYE et al. 2004).

Operárias de *A. mellifera* em contato com placas de Petri pulverizadas com os inseticidas imidaclopride e tiametoxam, em dose subletal $10 \mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$, tiveram o voo prejudicado e outras funções motoras básicas debilitadas, comprometendo o forrageamento a campo (WILLIAMSON et al., 2014).

Tosi, Burgio e Nieh (2017) relataram que o inseticida químico sintético a base de tiametoxam, mesmo na concentração baixa ($1,34 \mu\text{L}$ / abelha), quando em contato com placas de Petri e por exposição crônica com abelhas *A. mellifera*, provocou alteração significativa no voo das operárias. A exposição crônica simulou que as operárias forrageiras fossem vários dias em locais mantendo o contato ou buscado pólen e néctar contaminado com o inseticida. Nos dois métodos de aplicação o inseticida tiametoxam apresentou efeitos tóxicos a *A. mellifera* africanizada, demonstrando que esta exposição pode afetar o forrageio e o retorno a colônia, conseqüentemente podendo ser um dos fatores que estão acarretando a diminuição das abelhas.

Levando em consideração a situação atual de declínio das populações de abelhas, o impacto causado pelo uso excessivo e incorreto de inseticidas químicos sintéticos tem sido destacado como o principal agente causal (PIRES et al., 2016). Já, os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, pelos resultados observados no presente estudo, não têm contribuído para este declínio, uma vez que não impactam ou pouco impactam na sobrevivência de operárias de *A. mellifera*, além de não interferirem no voo e na retomada do voo. A atividade de voo é essencial para o que as operárias exerçam a função de forrageamento por meio do qual coletam néctar, polén e água para a colônia e fazem o serviço de polinização.

Ainda assim, a utilização de fungos entomopatogênicos é um método que permite minimizar o impacto que os inseticidas químicos sintéticos causam sobre as abelhas, tendo um papel importante na preservação das mesmas.

No setor florestal é comum a utilização de métodos de controle que não sejam os químicos, porém ainda pouco se utiliza o controle biológico com o uso de fungos entomopatogênicos. Além disso, em muitas florestas plantadas ou próximo a estas, existem Apiários comerciais. Neste sentido, destaca-se que a possível utilização dos fungos entomopatogênicos, aqui testados, é uma alternativa, que quando necessária para o controle de insetos-praga nessas florestas, é seguro para as operárias forrageiras de *A. mellifera* que possam vir a entrar em contato, auxiliando assim na preservação dessa espécie.

5 CONCLUSÃO

Os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, nas formulações testadas, não causaram impacto negativo em operárias forrageiras de *A. mellifera* africanizada quando em contato com superfície vítrea (placas de Petri) e não interferiram no voo das mesmas.

Quando em contato com as folhas de eucalipto, apenas o fungo *M. anisopliae* reduziu discretamente a sobrevivência das operárias.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT - SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. **AGROFIT**. 2017. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>> Acesso em: 18 Ago. 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDOS DAS ABELHAS (A.B.E.L.H.A). **Abelha africanizada**. 2015. Disponível em: <<https://abelha.org.br/glossario/abelha-africanizada-2/>> Acesso em: 28 set. 2019.
- AKKOÇ, S.; KARACA, I.; KARACA, G. Effects of Some Entomopathogen Fungi on *Apis mellifera* L. and *Bombus terrestris* L. **Journal of Natural and Applied Sciences**, Isparta, Türkiye. v. 23, n. 2, p. 433-439, 2019.
- ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, cap.1, p. 1-38. 1998.
- AL MAZRA'AWI, M. S.; SHIPP, L. J.; BROADBENT, B. A.; KEVAN, P. G. Dissemination of *Beauveria bassiana* by honey bees (Hymenoptera: Apidae) for control of tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) on canola. **Environmental Entomology**, Annapolis, MD, v. 35, n. 6, p. 1569-1577, dez. 2006.
- ARAUJO, F. H.; POFFO, S. L.; CLAUDINO, G. G. S.; CELLA, I.; WEBER, R.; MILANI, V.; BOLZANI, R.; CESCO NETO, E. F. **Monitoramento e controle do ácaro *Varroa destructor* em colmeias de abelhas *Apis mellifera***. Florianópolis, p 12, maio, 2015. Disponível em: <http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/10/cartilha_abelha_web.pdf>. Acesso em: 15 out. 2017.
- ARAUJO, G. **Efeitos isolados e combinados dos inseticidas fipronil e tiametoxam para a abelha brasileira *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Apidae)**. 2017. 99 f. Tese de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL – ABEMEL. **Setor apícola brasileiro em números**. Disponível em: < http://www.conap.coop.br/wp-content/uploads/2017/01/INTELIG%C3%8ANCIA-COMERCIAL-ABEMEL_DEZEMBRO-CONSOLIDADO.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2019.
- BAINES, D.; WILTON, E.; PAWLUK, A. de GORTER, M.; CHOMISTEK, N. 2017. Neonicotinoids act like endocrine disrupting chemicals in newly-emerged bees and winter bees. **Scientific Reports** v. 7 n.1, p. 1-18.
- BAPTISTA, A. P. M. et al., Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *A. mellifera*. **CIÊNCIA RURAL**, Santa Maria, v. 39, n. 4, 2009.
- BARNETT, E.A.; CHARLTON, A.J.; FLETCHER, M.R. Incidents of bee poisoning with pesticides in the United Kingdom, 1994-2003. **Pest Management Science**, Reino Unido, v.63, p.1051-1057, 2007.
- BOVI, T.S., ZALUSKI, R., ORSI, R.O. Toxicity and motor changes in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) exposed to fipronil and imidacloprid. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. 28 v. 90, n.1, p. 239-245, 2018.

BUENO, V. H. P. et al. **Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável**. 2015. Disponível em: <<http://www.den.ufla.br/attachments/article/75/ApostilaCB%20%28final%29.pdf>>. Acesso em: 09 set. 2019.

CÁRIO, S. A. F.; PEREIRA, L. B.; SOUZA, J. P. de.; AUGUSTO, C. A.; SIMIONI, F. J. **Cadeia produtiva apícola do Paraná: características produtivas e relações transacionais**. Porto Alegre, 2015. Disponível em: <<https://revistas.fee.tche.br/index.php/ensaios/article/view/2865/3553>>. Acesso em: 30 set. 2017.

CARVALHO, S. M. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura de citrus a operárias de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE). 2006. 71 f. Tese de Mestrado - Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2006.

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

COLMEIA VIVA Mapeamento de Abelhas Participativo. **Infolab**. São Paulo, set. 2016. Disponível em: <https://colmeiaviva.com.br/wp-content/uploads/2016/10/Relatorio_previo_WEB-30set2016.pdf>. Acesso em: 10 nov 2019.

COLOMBO, F. C. Seletividade de fungos entomopatogênicos e óleos essenciais a *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). 2019. 80 f. Tese de Mestrado - UTFPR-Dois Vizinhos, 2019.

CONCEIÇÃO, P. de J.; NEVES, C. M.; SODRÉ, G. da S.; CARVALHO, A. L. de.; SOUZA, A. V.; RIBEIRO, G. S.; PEREIRA, R. Susceptibility of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) worker bees to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Sociobiology**, Feira de Santana, v. 61, n. 2, p. 184-188, jun. 2014.

COSTA-MAIA, F. M.; LINO-LOURENÇO, D. A.; TOLEDO, V.de A. A. de. **Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. Sistemas de produção agropecuária** (Ciências Agrárias, Animais e Floresta), Editora UTFPR, Dois Vizinhos, v. 1, n. 1, p. 45-67, 2010.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. N. **Apicultura: manejo e produtos**. 3. ed. Jaboticabal: Funep, 2006.

DECOURTYE, A; DEVILLERS J; CLUZEAU S; CHARRETON M; PHAM-DELÈQUE MH. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. **Ecotoxicol Environ Saf**. v.57 n.3, p. 410-419, mar. 2004.

EFROM, C.F.S. RADAELLI, L. R. MEIRELLES, R. N. OURIQUE, C. B. Side-Effects of Pesticides Used in the Organic System of Production on *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. **BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY**. v.55, n. 1, p. 47-53, January-February, 2012.

ELLIS, J. D.; EVANS, J. D.; PETTIS, J. Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States. **Journal of Apicultural**

Research. 2010. Disponível em: <<https://naldc.nal.usda.gov/download/41836/PDF>>. Acesso em: 13 out. 2017.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. **Polinizadores e pesticidas: princípios e manejo para os agroecossistemas brasileiros.** Brasília: MMA, 2012.

FRIES, I.; CAMAZINE, S. Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. **Apidologie**, Londres, v. 32, n. 3, p 199-214, mai./jun. 2001.

GALLAI, N.; SALLES, J. M.; STTELE, J.; VAISSIÈRE, B. E. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics, Elsevier**, p 1-35, 2009.

GALLO, D. (*in memoriam*); NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola.** Piracicaba: FEALQ, v. 10, 2002.

GOMES, I. N. **Bioensaios em laboratório indicam efeitos de deletério de agrotóxicos sobre abelhas *Melipona capixaba* e *Apis mellifera*.** 2017. 59f. Tese de Mestrado – UFV, Minas Gerais, 2017.

GONÇALVES, L. S. Consequências do desaparecimento (DCC) das Abelhas no Agronegócio Apícola Internacional e em especial no Brasil. In: X Encontro sobre Abelhas, 2012, Ribeirão Preto, **Anais do X Encontro sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, 2012, p. 24-25.

GRAVENA, S. Os fungos no controle de insetos. **Revista Cultivar Grandes Culturas.** Pelotas, n. 03, Abril/2000.

HAMIDUZZAMAN, M. M.; SINIA, A.; GUZMAN-NOVOA, E.; GOODWIN, P. H. Entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents of the ecto-parasitic mite, *Varroa destructor*, and their effect on the immune response of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Invertebrate Pathology**, [S.l.], v. 111, n. 3, p. 237-243, nov. 2012.

HOKKANEN, H. M. T.; ZENG Q. Q.; MENZEL-HOKKANEN, I. Assessing the Impacts of *Metarhizium* and *Beauveria* on Bumblebees. **Environmental impacts o.f Microbial Insecticides**, Progress in Biological Control, Springer, Dordrecht, vol 1, p. 63-72, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2018. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2017_v45_br_informativo.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GONÇALVES, L. S.; FRANCOY, T. M.; NUNES-SILVA, P. O Desaparecimento das Abelhas Melíferas (*Apis mellifera*) e as Perspectivas do Uso de Abelhas Não Melíferas na Polinização. **Embrapa Semi-Árido**, Petrolina, v. 249, p. 220-233, 2012.

ITAGIBA, M. G. O. R. **Noções básicas sobre criação de abelhas, instalação de um apiário, métodos de criação, colheita e extração de mel e polinização.** São Paulo: Nobel, 1997.

KANGA, L. H. B.; JONES, W. A. JAMES, R. R. Field Trials Using the Fungal Pathogen, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes: Hyphomycetes) to Control the Ectoparasitic Mite, *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Honey Bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies. **JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY**, Weslaco, EUA, Vol. 96, no. 4, p. 1091-1099, Abr. 2003.

KOMATSU, S. S.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. Análises físico-químicas de amostras de méis de flores silvestres, de eucalipto e de laranjeira, produzidos por *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera, Apidae) no Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 143-146, 2002.

LAZAROTTO, W.; CERICATO, A. **Proposta de incentivo a atividade apícola para obtenção de renda extra nas propriedades rurais familiares.** 2014. UNOESC. Chapecó, 2014.

LINS, L. G. **APAs(ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL) FEDERAIS Análise da APA da Chapada do Araripe.** 2009. 82 f. Centro Universitário de Brasília. Brasília, 2009.

MALASPINA, O.; SOUZA, T. F.; ZACARIN, E. C.; CRUZ, A. da. S. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. In: VII Encontro de Abelhas, 2008, Ribeirão Preto. **Anais do VII Encontro de Abelhas.** Ribeirão Preto, 2008, p. 41-48.

MARCHINI, L. C. et al. Plantas visitadas por abelhas africanizadas em duas localidades do estado de São Paulo. **Scientia Agricola**, v.58, n.2, p.413-420, 2001.

MELO, I. S. de.; AZEVEDO, J. L. de. **Controle Biológico.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

MESSAGE, D.; GUIDUGLI-LAZZARINI, K. R.; FREITAS, N. H.; SIMÕES, Z. L. P.; de JONG, D.; SILVA, I. C.; TEIXEIRA, É. W. Colapso de colônias de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 59, 2011.

MESSAGE, D.; TEIXEIRA, É. W.; JONG, D. de. Situação da sanidade das abelhas no Brasil. **Polinizadores do Brasil.** 2012. Disponível em: <<http://myrtus.uspnet.usp.br/statuspolin/12.html>>. Acesso em: 9 out. 2017.

NICOLETTI, J. **Sumiço das abelhas derruba exportações de mel do Brasil.** Disponível em: < <https://agrosoft.org.br/2013/09/09/sumico-das-abelhas-derruba-exportacoes-de-mel-do-brasil/>>. 2003. Acesso em: 7 out. 2017.

OLINTO, F. A. **Comportamento higiênico e identificação de patógenos em colmeias de *Apis mellifera* L. africanizadas no sertão paraibano.** 2014. 62p. Universidade Federal De Campina Grande. Pombal, 2014. Disponível em: <<http://periodicos.ccta.ufcg.edu.br/index.php/PPSA/article/viewFile/72/33>>. Acesso em: 28 set. 2019.

OLIVEIRA, M. O. de. Declínio populacional das abelhas polinizadoras de culturas agrícolas. **ACTA Apícola Brasilica**, Pombal, v. 3, n. 2, p. 01-06, dez. 2015.

ORLANDELLI, R. C.; PAMPHILE, J. A. Fungos entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* como agente de controle biológico de insetos pragas. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.** Maringá, v.6, n.2, p.79-82, mai./ago., 2011.

PALUDO, C. R. **Estudo químico e biológico de micro-organismos à abelha sem ferrão *Scaptotrigona depilis***. 2017. 173 f. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêutica) – USP, Ribeirão Preto, 2017.

PARRA, J. R.; BOTELHO, P. S.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

PEGORARO, A. et al. **Aspectos práticos e técnicos da apicultura no sul do Brasil**. 2017. 282p. Universidade Federal Do Paraná. Curitiba, 2017. Disponível em: <<https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/45536/Aspectos%20pr%C3%A1tico>>. Acesso em: 15 set. 2019.

PEREIRA, F. de M.; LOPES, M. T. do R.; CAMARGO, R. C. R. de.; VILELA, S. L. de. O. **Produção de mel**. Embrapa Meio Norte, Sistema de Produção, v. 3, jul. 2003. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_sisal/arvore/CONT000fckg3d hb02wx5eo0a2ndxytqx96jy.html>. Acesso em: 01 out. 2017.

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. de M.; LOPES, M. T. do R.; NOCELLI R. C. F.; MALASPINA O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, É. W. **Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de DCC?** v.51, n.5, p.422-442, maio, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v51n5/1678-3921-pab-51-05-00422.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2017.

POTRICH, M.; SILVA, R. L. T.; MAIA, F. M. C.; LOZANO, E. R.; ROSSI, R. M.; COLOMBO, F. C.; TEDESCO, FL G.; GOUVEA; A. Effect of entomopathogens on Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 1, p. 5–12, 2018.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: **R Foundation for Statistical Computing**, 2018. Disponível em: <<http://www.R-project.org>> Acesso em: 08 nov 2019.

RAMOS, J. M.; CARVALHO, N. C.de. **Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera***. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal. Garça: Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal de Garça, 2007.

SANTANA, A. G. **Produção de própolis por *Apis mellifera* L. (africanizadas) e avaliação do uso do pólen na determinação de sua origem botânica**. 2003. 48f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

SANTOS, A. C. C. S. **Óleo essencial de *Cymbopogon martinii* e seu constituinte majoritário geraniol: Influência na mortalidade e comportamento de *Apis mellifera* (APIDAE)**. 2017. 50f. Tese Mestrado – UFS, São Cristovão, 2017.

SANTOS, A. M. M. dos; MENDES, E. C. **Abelhas africanizada (*Apis mellifera* L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes**. Revista Sustinere, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, p. 117-143, jan-jun, 2016.

SARTO, M. C. L. del. **Toxicidade de inseticidas para as abelhas *Melipona quadrifasciata* e *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. 75f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO (SEAB). 2018. Disponível em: < http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/qas/uploads/6047/mel__diario_no_1_12fev2018.pdf>. Acesso: 22 set. 2019.

SILVA, J. C. OLIVEIRA, J. T. da S. O eucalipto e a apicultura. **REVISTA DA MADEIRA** n.75, ago, 2003. Disponível em: < http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=393&subject=Apicultura&title=O>. Acesso em: 13 out. 2019.

SILVA, R. T. L. da. **Efeito de entomopatógenos e extratos vegetais sobre *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)**. 2014. 103 f. Tese Mestrado – UTFPR, Dois Vizinhos, 2014.

SILVA, M; GOLVEA, A; POTRICH, M; NAVA, GR; PURETZ, B. O.; FOQUESATO, C; SILVA, ERL. 2010. **Efeito de fungos entomopatogênicos comerciais sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum* riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. UTFPR. Dois Vizinhos, 2014.

SILVA, W. O. B. da.; SANTI, L.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in Rhipicephalus (Boophilus) microplus infection. **Fungal Biology**, Cambridge, v. 114, p. 10-15, 2010.

SOARES, A. E. E. Abelhas africanizadas no Brasil: do impacto inicial às grandes transformações. **Anais da 64ª Reunião Anual da SBPC**, São Luís, Julho/2012.

SOUZA, E. P. de. **Padrão de distribuição temporal de *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) em um cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) de ciclo indeterminado e toxicidade de inseticidas para tratamento de sementes em abelhas adultas**. 2019. 104 f. Tese Doutorado – Universidade Federal da Grande Dourados. 2019.

SOUZA, J. A. et al. **A apicultura em Rondônia (Amazônia legal): estudo de caso sobre o arranjo produtivo local da apicultura no cone sul**. Revista Estudo & Debate, Lajeado, v. 23, n. 2, 2016. Disponível em: <<http://univates.br/revistas/index.php/estudoedebate/article/view/1075/1047>>. Acesso em: 21 set. 2019.

STRAUB, Lars et al. **Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect contraceptives**. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1835, p.1-8, 2016.

TADEI, R.; DOMINGUES, C.E.C.; MALAQUIAS, J. B. Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*. **Scientific Reports**. n. 3277, 2019.

TAUTZ, J. **O fenômeno das abelhas**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

TOMÉ, H.V.V.; BARBOSA W.F.; CORRÊA, A.S., GONTIJO, L.M., MARTINS, G.F & GUEDES, R.N.C. 2015. Reduced-risk insecticides in Neotropical stingless bee species: impact on survival and activity. **Ann Appl Biol**. n.167, p.186–196, 2015.

TOSI, S.; BURGIO, G.; NIEH, J.C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1201, p. 1-8, 2017.

VanENGELSDORP, D.; UNDERWOOD, R.; CARON, D.; HAYES, J. JR. An estimate of managed colony losses in the winter of 2006 –2007: A report commissioned by the apiary inspectors of America. **American Bee Journal**, Hamilton, IL, v.147, p. 599-603, jul. 2007.

VIEIRA, M. I. **Apicultura atual: abelhas africanizadas**. São Paulo: Nobel, 1986.

WIESE, H. **Apicultura: novos tempos**. 2. ed. Guaíba: Agrolivros, 2005.

WILLIAMS, G. R.; TARPY, D. R.; VanENGELSDORP, D.; CHAUZAT, M. P.; COX-FOSTER, D. L.; DELAPLANE, K. S.; NEUMANN, P.; PETTIS, J. S.; ROGERS, R. E. L.; SHUTLER, D. Colony Collapse Disorder in context. **Journal BioEssays**, EUA, s. 32, p 845–846, 2010.

WILLIAMSON, S. M. et al. **Exposure to neonicotinoids influences the motor function of adult worker honeybees**, v. 23, n. 8, p. 1409-1418, 2014.

YAMAMOTO, P.T.; BASSANESI, R.A. Seletividade de acaricidas a inimigos naturais em citros. In: OLIVEIRA, C.A.L. & DONADIO, L.C. (Eds.). **Leprose dos citros**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. p.159-170.