



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
CENTRO DE FORMAÇÃO INTERDISCIPLINAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOCIEDADE, AMBIENTE E
QUALIDADE DE VIDA

GERNILANE CALDEIRA SOUZA

EFEITOS DE HERBICIDAS NA SOBREVIVÊNCIA E COMPORTAMENTO DE
***SCAPTOTRIGONA AFF. XANTHOTRICHA* (APIDAE, MELIPONINI)**

SANTARÉM-PA
2021

GERNILANE CALDEIRA SOUZA

**EFEITOS DE HERBICIDAS NA SOBREVIVÊNCIA E COMPORTAMENTO DE
SCAPTOTRIGONA AFF. XANTHOTRICHA (APIDAE, MELIPONINI)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida da Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida.

Orientadora: Prof^a. Dra. Alanna Socorro Lima da Silva

**SANTARÉM-PA
2021**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

S729e Souza, Gernilane Caldeira
Efeito de herbicidas na sobrevivência e comportamento de *Scaptotrigona Aff. Xanthotricha (apidae, meliponini)* / Gernilane Caldeira Souza – Santarém, 2020.
50 p. : il.
Inclui bibliografias.

Orientador: Alanna do Socorro Lima da Silva
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-reitoria de Pesquisa, Pós Graduação e Inovação Tecnológica, Centro de Formação Interdisciplinar, Programa de Pós-Graduação em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida.

1. Abelhas sem ferrão. 2. Mortalidade. 3. Glifosato. 4. Reflexo de extensão de probóscide. I. Silva, Alanna do Socorro Lima da, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 638.159



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
CENTRO DE FORMAÇÃO INTERDISCIPLINAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOCIEDADE, AMBIENTE E QUALIDADE DE VIDA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

No vigésimo terceiro dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e um, às dez horas, por meio remoto <https://webconf.ufopa.edu.br/b/ala-mbp-zu4>, instalou-se a banca examinadora de dissertação de mestrado da discente **Gernilane Caldeira Souza**. A banca examinadora foi composta pelos professores: Dr^a. **Graciene Conceição dos Santos**, UFOPA, Examinadora Externa, Dr. **Maxwell Barbosa de Santana**, Examinador Interno e Dra. **Alanna do Socorro Lima da Silva**, orientadora da discente. Deu-se início a abertura dos trabalhos por parte da professora, Alanna do Socorro Lima da Silva, presidente da banca, que após apresentar os membros da banca examinadora e esclarecer a tramitação da defesa, solicitou a discente que iniciasse a apresentação da dissertação, intitulada "Efeitos de Herbicidas na Sobrevivência e Comportamento de *Scaptotrigona aff. xanthotricha* (Apidae, Meliponini)". Concluída a exposição, a professora Alanna do Socorro Lima da Silva, passou a palavra aos examinadores para arguir a discente. Terminadas as arguições, a presidente da banca solicitou aos presentes que se retirassem da sala, para a realização do julgamento do trabalho, concluindo a Banca Examinadora por sua **Aprovada**, conforme as normas vigentes na Universidade Federal do Oeste do Pará. A versão final da dissertação deverá ser entregue ao programa, no prazo máximo de sessenta dias, contendo as modificações sugeridas pela banca examinadora. Conforme o Artigo 57 do Regimento Interno do Programa, a discente não terá o título se não cumprir as exigências acima.

Prof^a. Dr^a. Alanna do Socorro Lima da Silva
Presidente

Prof^a. Dr^a. Graciene Conceição dos Santos
Membro Externo – UFOPA

Prof. Dr. Maxwell Barbosa de Santana
Membro Interno

Gernilane Caldeira Souza
Discente

Dedico a todos aqueles que não desistem dos seus sonhos.

À minha família, de modo especial ao meu sobrinho Rhael que na sua pequenez me transmite muita força.

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus por ser o meu melhor amigo, por me guiar, me fortalecer e ter escrito essa história para minha vida. Minha alma diz “meu Deus como és Lindo”.

A minha família, pelo apoio emocional e financeiro, pelos incentivos, pelas orações, por tudo. Á minha orientadora, Alanna Silva pelo apoio, paciência, confiança, puxões de orelha, contribuições. Por ter me ajudado a crescer profissionalmente e pessoalmente.

Aos meus queridos professores: Fabrizia Otani e Diego Mota pelo apoio, conversas, conselhos e por me incentivarem.

Á professora Graciene Santos pelas colaborações e incentivo.

As minhas amigas e aos meus amigos: Allan Carlos, Suellen Schinko, Andrêssa Araújo, Antonio Ítalo, Ellen Fernanda, Antonio Lima e Jairo Araújo, que estiveram comigo durante esse percurso e que foram essenciais para que eu conseguisse concluir essa etapa, e principalmente por sonharem junto comigo e acreditarem em mim.

Á minha madrinha Karla Almada por toda ajuda, conselhos e tempo a mim dedicados.

Á minha parceira de pesquisa Wanessa Costa por estar comigo nesse percurso, pela dedicação, por me dar forças, por me ouvir, compreender meus estresses, ser um ombro amigo todas as vezes que eu chorava, e por junto comigo sempre pensar nas melhores estratégias para realização da pesquisa mesmo nos tempos difíceis de pandemia. Você foi essencial para essa conquista!

Aos meus colegas de turma pelos momentos e conhecimentos construídos e compartilhados, de modo especial aos queridos Railon Marinho, Anny Gabriela e Larissa Soares.

A Universidade Federal do Oeste do Pará, pela oportunidade e suporte.

E a todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte deste ciclo e contribuíram para minha formação.

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”
(Josué 1:9)

RESUMO

A espécie de abelha *Scaptotrigona aff. xanthotricha* é nativa, sem ferrão. No Brasil, as abelhas sem ferrão são responsáveis pela polinização de 40% a 90% das espécies arbóreas. Porém, elas vêm sofrendo sérias ameaças, as quais estão causando um declínio em suas populações. O uso de agrotóxicos em cultivos agrícolas vem sendo apontado como um dos fatores responsáveis por esse declínio populacional. Embora, serem considerados como seguro ou menos tóxicos para insetos não-alvos, os herbicidas podem apresentar muitos efeitos, tanto letais, quanto subletais às abelhas. Devido a tal fato, o objetivo desse trabalho foi avaliar a taxa de mortalidade, existência de alteração na habilidade do reflexo de extensão da probóscide e ocorrência de alteração na atividade motora das abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha* após exposição às doses comerciais dos herbicidas 2,4-D e glifosato, de modo a testar o efeito desses herbicidas na sobrevivência e comportamento nessa espécie de abelhas sem ferrão. Para isso utilizou-se as maiores e menores doses de campo dos herbicidas indicadas para a cultura da soja. Para a determinação da mortalidade, as abelhas foram intoxicadas com os herbicidas pela via de exposição de contato e a mortalidade das abelhas foi contabilizada ao término de 24h corridas desde o momento do aprisionamento delas. Para avaliar o reflexo de extensão da probóscide (REP) foram oferecidas uma mistura de água e mel (25% mel e 75% água) para cada abelha, com três ofertas e foram avaliadas as respostas positivas e negativas para cada uma. A atividade motora das abelhas expostas aos herbicidas foi avaliada utilizando-se caixa de observação comportamental, com raias de 50 cm. O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 03 tratamentos e 30 abelhas por tratamento. Os percursos foram filmados por uma câmera digital para posterior análise. A mortalidade nas doses maiores dos herbicidas diminuiu, indicando que as doses menores recomendadas comprometem mais sobrevivência das abelhas. Para o teste de extensão de probóscide houve diferenças significativas para a segunda ($z = 3,61$; $P = 0,0003$) e terceira oferta ($z = 3,29$; $P = 0,001$). E para o teste de locomoção houve diferenças significativas no tempo de corrida, abelhas contaminadas com Glifosato apresentaram tempo de corrida menor do que as abelhas que não entraram em contato com nenhum herbicida ou que entraram em contato com o herbicida 2,4-D. Sugerindo-se assim que o Glifosato aumentou a atividade locomotora das abelhas. Para o 2,4-D não houve diferença significativa. Os resultados apresentados nessa pesquisa confirmam que os herbicidas 2,4-D e glifosato apresentam efeito negativo e risco a sobrevivência de abelhas. Pois, além dos efeitos que levam as abelhas a morte imediata, podem

provocar alterações comportamentais nos indivíduos que influenciam diretamente na manutenção da colônia.

Palavras-Chave: Abelhas sem ferrão. Mortalidade. Glifosato. Reflexo de extensão de probóscide. 2,4-D.

ABSTRACT

The bee species *Scaptotrigona aff. xanthotricha* is native, stingless. In Brazil, stingless bees are responsible for the pollination of 40% to 90% of tree species. However, they have been suffering from serious threats, which are causing a decline in their populations. The use of pesticides in agricultural crops has been identified as one of the factors responsible for this population decline. Although considered to be safe or less toxic to non-target insects, herbicides can have many effects, both lethal and sublethal to bees. Due to this fact, the objective of this study was to evaluate the mortality rate, existence of changes in the ability of the proboscis extension reflex and occurrence of changes in the motor activity of *Scaptotrigona aff. xanthotricha* after exposure to commercial doses of the herbicides 2,4-D and glyphosate, in order to test the effect of these herbicides on survival and behavior in this species of stingless bees. For this, the highest and lowest field doses of the herbicides indicated for soybean cultivation were used. For the determination of mortality, bees were intoxicated with the herbicides by means of contact exposure and mortality and the mortality of bees was counted at the end of 24 hours since the moment of their imprisonment. To evaluate the proboscis extension reflex (REP), a mixture of water and honey (25% honey and 75% water) was offered to each bee, with three offers and the positive and negative responses were evaluated for each one. The motor activity of bees exposed to herbicides was assessed using a behavioral observation box, with 50 cm streaks. The bioassay was carried out in a completely randomized design (DIC) with 03 treatments and 30 bees per treatment. The courses were filmed by a digital camera for further analysis. Mortality at higher herbicide doses has decreased, indicating that the recommended lower doses compromise bee survival. For the proboscis extension test, there were significant differences for the second ($z = 3.61$; $P = 0.0003$) and third offer ($z = 3.29$; $P = 0.001$). And for the locomotion test there were significant differences in the running time, bees contaminated with Glyphosate had a shorter running time than the bees that did not come into contact with any herbicide or that came into contact with the herbicide 2,4-D. Thus suggesting that Glyphosate increased the locomotor activity of bees. There was no significant difference for DMA. The results presented in this research confirm that the herbicides 2,4-D and glyphosate have a negative effect and risk to bee survival. Because, in addition to the effects that lead the bees to immediate death, they can cause behavioral changes in individuals that directly influence the maintenance of the colony.

Keywords: Stingless bees. Mortality. Glyphosate. Proboscis extension reflex. 2,4-D.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Coleta das abelhas <i>Scaptotrigona aff. xanthotricha</i>	33
Figura 2 - Indivíduos nas placas de Petri.....	35
Figura 3 - Abelha aprisionada em cápsula de mangueira de silicone.....	36
Figura 4 - Caixa de observação comportamental para o teste de locomoção.....	38
Figura 5 - Mediana e intervalo de confiança da taxa de mortalidade (%) de <i>Scaptotrigona aff. xanthotricha</i> sob exposição por contato com os herbicidas a base de 2,4-D e Glifosato nas maiores e menores doses recomendadas pelos fabricantes.....	39
Figura 6 - Frequência de respostas positivas de extensão da probóscide das abelhas <i>Scaptotrigona aff. xanthotricha</i> após exposição às doses comerciais dos herbicidas a base de 2,4-D e Glifosato.....	41
Figura 7 - Frequências de respostas positivas de extensão de probóscide previstas por modelos de regressão logística. A) Primeira oferta realizada aos três grupos. B) Segunda oferta realizada aos três grupos. C) Terceira oferta realizada aos três grupos.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado da análise de variância aplicada aos blocos e aos tratamentos de tempo de corrida.....43

Tabela 2 - Média tempo de duração da corrida de abelhas entre um grupo controle e grupos de abelhas que tiveram contato com 2,4-D e Glifosato.....43

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
REFERÊNCIAS	
CAPÍTULO 1 -	16
1.1 Revisão de literatura.....	16
1.1.1 Importância das abelhas sem ferrão como agentes polinizadores.....	17
1.1.2 Uso do agrotóxico na agricultura e seus impactos sobre as abelhas.....	18
1.1.3 Agrotóxicos: a classe dos herbicidas.....	21
1.1.4 Glifosato e sua toxicidade para abelhas.....	22
1.1.5 2,4-D e sua toxicidade para abelhas.....	23
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 2 -	29
2 Efeito dos herbicidas 2,4-d e glifosato na sobrevivência e comportamento de abelhas	
<i>Scaptotrigona aff. Xanthotricha</i>	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	29
2.1 Introdução.....	30
2.2 Material e Métodos.....	33
2.2.1 Local do experimento.....	33
2.2.2 Animais e Colheita das abelhas.....	33
2.2.3 Herbicidas e doses utilizadas.....	33
2.2.4 Testes de toxicidade e avaliação comportamental.....	34
2.2.4.1 Teste de mortalidade.....	34
2.2.4.2 Teste de Reflexo de Extensão da Probóscide (REP).....	35
2.2.4.3 Teste de Locomoção.....	37
2.2.4.4 Análise estatística dos resultados.....	38
2.3 Resultados e Discussão.....	39
2.3.1 Teste de mortalidade.....	39
2.3.2 Teste de Reflexo de Extensão da Probóscide (REP).....	41
2.3.3 Teste de Locomoção.....	43
2.4 Conclusão.....	45
REFERÊNCIAS	46

INTRODUÇÃO GERAL

As abelhas da tribo Meliponini, também conhecidas popularmente por abelhas sem ferrão fazem parte de um grupo diverso, com mais de 400 espécies com muitas variabilidades em suas fisiologias, morfologia e tamanho (MOURE *et al.*, 2007). Fazem parte da superfamília Apoidea, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, a maior concentração de criação destes insetos se localiza nas Américas, onde ocorre grande diversidade de espécies dessas abelhas (VILLAS-BÔAS, 2012). Segundo Malagodibra e Kleinert (2000), apresentam como características importantes exploração alimentar generalista, constância floral, presença de colônias perenes, o não abandono dos ninhos, acúmulo de alimento, baixa agressividade, menos amplitude de voo e colônias pouco populosas.

Possuem hábitos de nidificação variados e com grande complexidade estrutural e comumente a arquitetura da entrada e do interior do ninho auxilia na identificação e reconhecimento das espécies, sendo uma característica marcante de determinado gênero ou espécie (ROUBIK, 2006). Os sítios de nidificação dos meliponíneos mais frequentes são ocos de árvores, fendas de rochas, cavidades nos solos e interiores de cupinzeiros, podendo existir ninhos expostos ou semi-expostos (KLEINERT-GIOVANNINI, 1989). A entrada do ninho na maioria das espécies, é feita por um tubo externo de cera pura ou cerume (que pode variar da cor branca até preta) e o comprimento varia de acordo com a espécie (FREITAS, 2001). Suas colônias variam de poucas dúzias a centenas ou mais de operárias, vivem em colônias permanentes e apresentam castas denominadas operárias, rainhas e zangões, sendo que as rainhas são responsáveis pela postura de ovos, as operárias pelas atividades de manutenção do ninho, como: cuidado da cria, construção de células e potes, limpeza, guarda, termorregulação, coleta e estoque de recursos e os zangões pela fecundação da rainha (MICHENER, 2000; MICHENER, 2007).

A polinização das abelhas é fundamental tanto no âmbito ecológico quanto econômico, pois como um processo ecológico é indispensável não somente para a reprodução sexuada das angiospermas, mas também para a produção de alimentos e a manutenção e conservação das redes de interações entre plantas e animais (YAMAMOTO, *et al.*, 2010).

Além de desempenharem um papel essencial na polinização, as abelhas nativas atuam como detector de poluição ambiental, indicando, via alta taxa de mortalidade, a presença de moléculas tóxicas, ou através da presença de metais pesados, resíduos químicos e acúmulo de pesticidas no mel, pólen e larvas (CELLI; MACCAGNANI, 2003). E destacam-se também pela

produção de mel e outros subprodutos, como própolis e cera (LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005).

A criação racional de abelhas sem ferrão é muito comum no Brasil, e vem sendo praticada há séculos por populações rurais, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, bem como por comunidades tradicionais como indígenas e quilombolas (CARVALHO; MARTINS; MOURÃO, 2014). Porém esses insetos encontram-se em processo de diminuição de suas populações, ocasionadas por ações antrópicas, como desmatamentos, queimadas, expansões das zonas urbanas em regiões que antes eram de florestas nativas, que causam impacto sobre seus recursos alimentares e sítios de nidificação, e acrescido a esses fatores o uso indiscriminado de agrotóxicos (KERR, *et al.*, 2010).

O Oeste do estado do Pará (Brasil) é uma das principais fronteiras de expansão agrícola, fato esse impulsionado, no final da década de 1990, pela pavimentação da rodovia federal BR – 163 (Cuiabá, estado do Mato Grosso – Santarém, estado do Pará). Essa região sofre com a difusão de cultivos mecanizados, como a soja (*Glycine max L. Merrill*, Fabaceae), bem como com o aumento de áreas de pastagem e a extração ilegal de madeira, que têm ocasionado impactos sociais, ecológicos e econômicos (LOUREIRO e PINTO, 2005). Uma das preocupações com o desmatamento crescente devido ao avanço da soja é o uso de agrotóxicos nesse cultivo e o impacto dessa atividade sob as populações de abelhas nativas (VENTURIERI, 2008).

Os herbicidas glifosato e 2,4-D estão entre os principais utilizados nos cultivos na região metropolitana de Santarém (SCHWAMBORN, 2019), e podem ter efeito nas populações de abelhas, incluindo as sem ferrão, tanto em áreas naturais e quanto em meliponários (locais onde são instaladas as colmeias de meliponíneos). O glifosato é um herbicida não seletivo, sistêmico, pós-emergente indicado para o controle de plantas daninhas mono e dicotiledôneas anuais e perenes (JUNIOR e SANTOS, 2002). O 2,4-D foi o primeiro herbicida orgânico, seletivo em pós-emergência desenvolvido no mundo, é usado como regulador de crescimento vegetal e como herbicida para o controle de plantas daninhas dicotiledôneas (MORTENSEN *et al.*, 2012).

Para Tomé *et al.* (2012), em países desenvolvidos são mais frequentes os estudos para analisar os efeitos dos agrotóxicos no comportamento das abelhas, já no Brasil estudos sobre as doses subletais e a ação conjunta desses produtos têm sido poucos realizados, principalmente quando se trata de abelhas nativas. Sendo assim necessárias pesquisas relacionadas ao impacto dos agrotóxicos nessas espécies, não só por sua importância econômica e ecológica, mas também por serem vulneráveis a estes compostos.

Tendo em vista a diversidade, importância das abelhas nativas brasileiras da região amazônica como agentes polinizadores, seus benefícios tanto sociais quanto econômicos, além de sua contribuição para a manutenção e a preservação dos ecossistemas e o crescente uso de agrotóxicos na região, se faz fundamental o estudo dos efeitos desses agrotóxicos nas abelhas. Com isto, a hipótese deste trabalho é que os herbicidas glifosato e 2,4-D podem apresentar influência na sobrevivência e comportamento de abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha*.

Desse modo, a presente pesquisa tem como objetivo testar o efeito dos herbicidas glifosato e 2,4-D na sobrevivência e comportamento da espécie de abelhas sem ferrão, *Scaptotrigona aff. xanthotricha*.

Tendo como objetivos específicos:

- Avaliar a taxa de mortalidade de abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha* sob efeito de doses comerciais dos herbicidas 2,4-D e glifosato.
- Avaliar a existência de alteração na habilidade do reflexo de extensão da probóscide das abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha* após exposição às doses comerciais dos herbicidas 2,4-D e glifosato;
- Avaliar a ocorrência de alteração na atividade motora das abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha* após exposição às doses comerciais dos herbicidas 2,4-D e glifosato.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, R.M.A. de; MARTINS, C.F & MOURÃO, J. S. Meliponiculture in Quilombola communities of Ipiranga na Gurugi, Paraíba state, Brazil na ethnoecological approach. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 10, n.1, p.3, 2014.

CELLI, G & MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution Honey bees as bioindicators of environmental pollution. **Bulletin of Insectology** v. 56, n. August, p. 137–139, 2003.

FREITAS, Geusa Simone. **Levantamento de ninhos de meliponíneos (Hymenoptera Apidae) em área urbana: Campus da USP Ribeirão Preto-SP**. Dissertação de mestrado. Departamento de Entomologia – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 81p. 2001.

JUNIOR, O.P.A.; SANTOS, T.C.R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim. Nova**. 25, 589-593, 2002.

KERR, W. E.; CARVALHO, G.A.; SILVA, A.C. & ASSIS, M.G.P. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, n.12, p.20-41, 2010.

KLEINERT-GIOVANNINI, A. A vida das abelhas “sem ferrão”. **Apicultura no Brasil** 32: 38-40, 1989.

LOPES, M.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, G. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas**, v. 2, n. 4, p. 7-9, 2005.

LOUREIRO, V.R.; PINTO, J. N. A. A questão fundiária na Amazônia. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 19, n. 54, 2005.

MALAGODI-BRAGA, K.S.; KLEINERT, A.M.P. Os meliponíneos e a polinização do morangueiro em estufas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., Florianópolis, 2000. **Anais...** Florianópolis: 2000.

MICHENER, C.D. The bees of the world. **The Johns Hopkins University Press**, Baltimore and London, 2000.

MICHENER, C.D. The bees of the world. **The Johns Hopkins University Press**, Baltimore, 2007.

MORTENSEN, D. A. et al. Navigating a critical juncture for sustainable weed management. **Bioscience**, v. 62, n. 1, p. 75-84, 2012.

MOURE, J. M.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region, Curitiba, **Sociedade Brasileira de Entomologia**. 2007.

ROUBIK, D.W. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**. 37: 124-143, 2006.

SCHWAMBORN, T.M. 2019. **Expansão da fronteira agrícola, uso de agrotóxicos e riscos de exposição humana ao glifosato na região metropolitana de Santarém**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável). Universidade de Brasília, Brasília, DF, 143p.

TOMÉ, H. V. V. *et al.* Imidacloprid-Induced Impairment of Mushroom Bodies and Behavior of the Native Stingless Bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Plosone**, v.7, n.6. 2012.

VENTURIERI, G. C. **Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. 2nd ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental; 2008.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de abelhas sem ferrão**. Brasília: Instituto Sociedade, população e Natureza (ISPN), Brasil, 2012.

YANAMOTO, M.; BARBOSA, A.A.A.; OLIVEIRA, P.E.A.M. A polinização em cultivos agrícolas e a conservação das áreas naturais: o caso do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deneger). **Oecologia Australis**, v.14, p.174-192, 2010.

CAPÍTULO 1

1.1 Revisão de Literatura

As abelhas são consideradas os mais eficientes polinizadores, por possuírem diversas características morfológicas e comportamentais que as qualificam para esta definição, características como a presença de pelos e estruturas especiais para coleta e transporte de pólen, néctar e outros recursos florais (PERUQUETTI, *et al.*, 2017).

De acordo com Lopes *et al.* (2014) as abelhas são importantes para a manutenção da vida e sustentabilidade planetária, por 85% das plantas com flores das matas e florestas, e 70% das culturas agrícolas dependerem desses polinizadores (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012). No Brasil, as abelhas sem ferrão são responsáveis pela polinização de 40% a 90% das espécies arbóreas, dependendo do ecossistema considerado (KERR *et al.*, 2001). Além de serem importantes agentes polinizadores, as abelhas também são a fonte de renda de muitas famílias que têm a criação de abelhas como principal atividade de geração de renda.

Porém, uma combinação de vários fatores tem causado o declínio populacional desses animais, como os desmatamentos, variações climáticas, agentes patogênicos (vírus, bactérias, ácaros) e uso abusivo de pesticidas, principalmente nas extensas áreas de monocultivo (EVANS *et al.*, 2009). Quando acontece redução das abelhas sem mortalidade aparente, uma das hipóteses a ser analisada é a intoxicação por agrotóxicos, que pode afetar o voo de retorno ao ninho ou a informação dada pela forrageira para as outras operárias através da dança e do som e ocasionar a morte (PHAM-DELÈGUE *et al.*, 2002).

O Brasil é um dos principais produtores agrícolas do mundo, e ao mesmo tempo a produção e uso de agrotóxicos vem sendo crescente, o país tem se destacado em uso a nível mundial nos últimos anos (LOPES E ALBUQUERQUE, 2018). Mais de 100 agrotóxicos foram liberados recentemente no país e ocorreu também uma reclassificação toxicológica, onde os produtos passaram a ser classificados em 5 categorias: extremamente tóxico, altamente tóxico, moderadamente tóxico, pouco tóxico e improvável de causar dano agudo, onde a maior parte dos produtos passou a ser classificada nas categorias menos tóxicas (GILSON *et al.*, 2020).

Dentre os principais tipos de agrotóxicos utilizados na agricultura mundial, os mais consumidos são os herbicidas, seguidos dos inseticidas, fungicidas e acaricidas (JARDIM; ANDRADE; QUEIROZ, 2009). Já no Brasil, os herbicidas constituem a segunda classe mais utilizada, acompanhando de perto os inseticidas (SINDIVEG, 2018).

De acordo com Gallo *et al.* (2002), esses produtos são substâncias químicas que podem ocasionar alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais sobre os seres vivos, atuando

nos organismos vivos através do bloqueio de processos fisiológicos e bioquímicos, e em maioria dos casos tem como alvo principal o sistema nervoso. Sendo que o uso incorreto e excessivo desses produtos se caracteriza como uma prática agressiva ao meio ambiente e seus componentes biológicos, ocasionando problemas para animais de grande porte como também para os pequenos insetos, incluindo os benéficos, como as abelhas (GALLO *et al.*, 2002). Vários casos sobre mortalidade de abelhas, provavelmente devido a contaminações pelo uso inadequado de agrotóxicos, têm ocorrido no Brasil (MALASPINA *et al.* 2008).

Os agrotóxicos podem atingir as abelhas principalmente por três formas: contato (durante o forrageamento, com partículas de inseticidas que ficaram depositadas nas flores), ingestão (através do pólen e néctar contaminados por meio do uso de inseticidas sistêmicos, que é absorvido pelo tecido vegetal) e fumigação (partículas suspensas de inseticidas que foram aplicados na área agrícola), chegando a apresentar efeitos a longo prazo, como danos no funcionamento da colônia e diminuição da longevidade dos indivíduos, ou mesmo a morte devido à toxicidade aguda (MALASPINA *et al.*, 2008).

A atual produção agrícola brasileira, baseada no alto uso de insumos, o controle de pragas e doenças está centrado principalmente no uso de diversas classes de agrotóxicos, como herbicidas, fungicidas e inseticidas entre outros, e embora as abelhas não sejam alvos específicos dessas substâncias, acabam sofrendo as consequências desse uso, através de alterações comportamentais e até mesmo a morte. Por isso, este trabalho teve como objetivo apresentar uma revisão bibliográfica sobre os impactos dos agrotóxicos nas abelhas, voltando-se principalmente para os herbicidas glifosato e 2,4-D.

1.1.1 Importância das abelhas sem ferrão como agentes polinizadores

As abelhas sem ferrão se destacam entre os polinizadores mais comuns nos ambientes tropicais, beneficiando a polinização de várias culturas agrícolas (MACÍAS-MACÍAS *et al.*, 2009). Sendo utilizadas tanto em cultivos abertos como também em cultivos fechados, estufas e casas de vegetação (MALAGODIBRAGA e KLEINERT, 2000).

Os meliponíneos são considerados polinizadores eficientes, por possuírem adaptações para a coleta de recursos florais, chegando até a se tornarem polinizadores específicos de certas culturas, além de sua importância na conservação da biodiversidade vegetal e seus serviços de polinização apresentarem produtos e subprodutos valorizados social e economicamente, como, mel, pólen, própolis e geoprópolis (MORITZ *et al.*, 2010).

Ao forragear as plantas, em busca de alimento, as abelhas operárias campeiras promovem a reprodução cruzada dos vegetais, aumentando o potencial de vigor das espécies, possibilitando novas combinações de fatores hereditários e melhorando a produção de frutos e sementes (COUTO; COUTO, 2002). Assim, a polinização se caracteriza como um processo fundamental para propagação das mais variadas espécies, por isso a importância dos serviços de polinização das abelhas sem ferrão vai além de espécies endêmicas, são importantes também em culturas de interesse econômico, como, algodão, café, laranja, maçã, soja, e entre outras culturas potencialmente difundidas pelo Brasil (IMPERATRIZ-FONSECA, 2004).

O uso de meliponíneos em polinização se apresenta crescente, por existir uma grande diversidade de espécies nesse grupo, o que possibilita a seleção das mais eficientes na polinização de determinada cultura (SILVA *et al.*, 2014). Potts *et al.* (2010) consideram a polinização promovida pelas abelhas como um importante insumo agrícola e relatam que em 2005 o valor econômico global da polinização por insetos gerou cerca de 153 bilhões de euros (9,5% do valor total da produção agrícola mundial).

Pesquisas têm mostrado os benefícios da polinização promovida por abelhas sem ferrão em diversas culturas. Roselino *et al.* (2010) ao avaliarem a qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum L.*) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão concluíram que as visitas dos polinizadores produziram um efeito positivo nos frutos de pimentão, onde fatores como peso, comprimento, diâmetro e peso de sementes foram beneficiados nos frutos que se desenvolveram de flores de pimentão que receberam as visitas das abelhas. Slaa *et al.* (2006) afirmaram que os meliponíneos são polinizadores efetivos de dezoito culturas agrícolas, sendo fortes candidatos para serviços de polinização. Calvete *et al.* (2003) avaliaram duas cultivares de morangueiro (Oso Grande e Tudla) em ambiente protegido, utilizando a abelha jataí (*Tetragonisca angustula L.*) como polinizadora e constataram que a presença desta abelha apresentou efeito positivo em todas as variáveis estudadas (frutos comerciáveis e defeituosos, peso médio, número total de frutos e produtividade), quando comparados com a testemunha (ausência de abelha), não diferindo as cultivares entre si.

1.1.2 Uso do agrotóxico na agricultura e seus impactos sobre as abelhas

A evolução da indústria de agrotóxicos está diretamente ligada ao processo de modernização da agricultura após II Guerra, baseado no uso intensivo de insumos químicos, biológicos e mecânicos. No Brasil, este processo consolidou-se ao longo dos anos 1970, concomitantemente à constituição de um parque industrial de insumos para a agricultura, além da criação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas, que proporcionou recursos

financeiros para a criação de empresas nacionais e a instalação de subsidiárias de empresas transnacionais no país e a oferta de crédito de custeio, necessário à criação de uma demanda em larga escala de insumos para a agricultura, viabilizado pela criação do Sistema Nacional de Crédito Rural em 1965. Acrescido a isso, a existência de um marco regulatório defasado e pouco rigoroso, que também facilitou o rápido registro de substâncias agrotóxicas, muitas delas já banidas pelas legislações de países desenvolvidos (PELAEZ, *et al.*, 2010).

A agricultura se faz cada vez mais dependente do uso de agrotóxicos, para o controle de plantas daninhas, insetos e pragas a fim de assegurar a produtividade, sendo necessária a viabilidade da aplicação desses produtos perante os órgãos de serviços ambientais, principalmente em campos agrícolas com somente uma espécie vegetal que pode favorecer o aparecimento dessas pragas e doenças (THOMPSON, 2003; COUTINHO *et al.*, 2005).

No Brasil a lei Federal nº 7.802 de 11 de julho de 1989, define toda atividade relacionada aos agrotóxicos e estabelece sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem, a rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, o controle, a inspeção e a fiscalização. Esta lei define os agrotóxicos como:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa dos seres vivos considerados nocivos, bem como, as substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

O uso excessivo de agrotóxicos tem originado consequências negativas, como o desaparecimento de algumas espécies de insetos úteis e aparição de novas, além de muitas espécies de insetos terem se tornando mais resistentes a certos produtos, o que levou à busca de novos produtos de maior seletividade (FLORES, *et al.*, 2004). Aumentando assim a preocupação com a contaminação ambiental, como, aumento das concentrações de resíduos nos alimentos, no número de doenças associadas e na biomagnificação desses contaminantes nas teias alimentares (BASSIL *et al.*, 2007).

Os agrotóxicos são divididos em diferentes classes, como: herbicidas, fungicidas, acaricidas, algicidas, larvicidas e inseticidas. Suas funções básicas na agricultura incluem a elevação da produção com aumento da produtividade, a melhoria da qualidade dos produtos e a redução do trabalho e gastos com energia. No entanto, o uso indiscriminado e pouco criterioso de agrotóxicos trouxe e continua trazendo problemas muitos sérios para o ambiente e para a

saúde humana (COUTINHO *et al.*, 2005). Um dos problemas ambientais é a contaminação de espécies que não interferem no processo de produção que se tenta controlar (espécies não-alvos) (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003), como abelhas que visitam os locais de plantio que têm o equilíbrio da sua população comprometida, pois a produção agrícola brasileira é praticada em extensas áreas de monoculturas, que agravam fatores como a disponibilidade de alimento para as abelhas e redução de estações de refúgio e nidificação (MALASPINA *et al.*, 2008; MARGNI *et al.*, 2002).

Pesquisas relataram haver associação direta entre a exposição das abelhas aos agrotóxicos, a ocorrência do Distúrbio de Colapso das Colônias (CCD) e consequentemente o declínio dos polinizadores. Os sintomas da CCD são: a rápida perda de abelhas operárias, evidenciada pelo enfraquecimento ou morte da colônia com excesso de crias, em comparação ao número de abelhas adultas; ausência de crias e abelhas adultas mortas dentro ou fora da colmeia; e ausência de invasão imediata da colmeia por pragas como, por exemplo, traças (VAN ENGELSDORP *et al.*, 2009). De uma forma mais detalhada a síndrome aconteceria, pois os agrotóxicos são capazes de interagir com patógenos da colmeia ou do ambiente que atingem a saúde das abelhas (VAN ENGELSDORP *et al.*, 2009; JOHNSON *et al.*, 2010; MULLIN *et al.*, 2010).

As abelhas melíferas estão sujeitas à exposição a estes agentes químicos devido, principalmente, às suas atividades de forrageamento (DESNEUX *et al.*, 2007). Sendo que as abelhas forrageiras não são as únicas que estão sujeitas a essa exposição, mas também aquelas que exercem atividades no interior da colônia e ainda os indivíduos que são alimentados com pólen e néctar estocados, ou seja, todos indivíduos, embora em diferentes fases da vida ou que executem diferentes funções, podem entrar em contato com esses produtos. Pela possibilidade desses produtos serem acumulados por longos períodos dentro da colmeia, não basta somente avaliar a quantidade de produtos químicos, a frequência de aplicação nas culturas e a persistência dos resíduos, faz-se necessária a determinação dos efeitos letais e subletais desses produtos (PHAM-DELÈGUE *et al.*, 2002).

De acordo com El Hassani *et al.*, (2005) o uso de defensivos agrícolas possui efeito tóxico agudo sobre as abelhas, levando a morte imediata, como também estariam afetando seu comportamento de forrageamento, ou seja, diminuindo sua atividade. As doses subletais de agrotóxicos não ocasionam a mortalidade imediata das abelhas, contudo, se levadas e estocadas nas colmeias, podem gerar mudanças fisiológicas e comportamentais nos indivíduos, passando a prejudicar a sobrevivência individual e comprometendo o bem-estar, produtividade e manutenção das colônias (MIRANDA *et al.*, 2003). Para Rocha e Alencar (2012) esses produtos

apresentam também efeito depressivo no sistema imunológico das abelhas expondo-as a parasitas e provocando sua morte. Ou causam problemas sobre a memória de navegação, fazendo com que se desorientem e se percam, não conseguindo voltar para seus ninhos, chegando a morrer longe de seus locais de origem (MALASPINA *et al.*, 2008).

Há trabalhos científicos que relatam o efeito negativo dos agrotóxicos sobre as abelhas, caracterizando-os como principais responsáveis pela redução da população e serviços ambientais. Alguns demonstram que há contaminação de abelhas durante o forrageamento de monoculturas, como exemplo, o caso apresentado por Krupke *et al.* (2012) no qual abelhas se expuseram de várias maneiras a pesticidas ao coletar recursos próximos a plantações agrícolas de milho nas quais as sementes foram tratadas com agrotóxicos.

Tomé *et al.*, (2012), ao submeterem operárias de *Melipona quadrifasciata anthidioides* a dietas contendo diferente doses de imidacloprid, constataram que além das abelhas adultas as larvas também podem ser afetadas pela alimentação de pólen e néctar contaminados. Onde verificaram um alto nível de mortalidade e efeitos subletais causados pelo comprometimento de regiões do cérebro responsáveis por memória, aprendizado e mobilidade. Sugerindo assim, que abelhas contaminadas na fase de desenvolvimento, mesmo que sobrevivam, terão seu desempenho comprometido quando adultas colocando em risco a sobrevivência da colônia.

El Hassani *et al.* (2005) avaliaram o efeito de doses subletais de fipronil no comportamento da *Apis mellifera* e relataram que a menor dose de fipronil (0,5 ng/abelha aplicado topicamente) prejudicou o aprendizado olfativo dessas abelhas, porém a atividade motora não foi prejudicada, sugerindo que há uma vulnerabilidade específica dos processos de memória olfativa das abelhas quando submetidas a doses subletais desse ingrediente ativo.

Em pesquisa realizada por Roat *et al.* (2013) para avaliar a toxicidade de dose subletal de fipronil na atividade metabólica dos neurônios de *Apis mellifera*, foi observado que, mesmo em concentrações baixas, o fipronil é prejudicial, podendo induzir vários tipos de lesões na fisiologia das abelhas. Em estudo de Tomé *et al.* (2015) com as abelhas nativas sem ferrão *Partamona helleri* e *Scaptotrigona xanthotrica* verificaram que biopesticida espinosade apresentou alta toxicidade para essas espécies expostas por contato e ingestão.

Thompson (2003) ao analisar o efeito de produtos fitossanitários, quando aplicados sobre adultos de abelhas, observou que podem provocar a morte, repelência, interferência na capacidade de forrageamento e no desenvolvimento da colônia, o que pode conduzir estes insetos a extinção, causando um impacto ambiental, em virtude da importância destes para os ecossistemas naturais.

1.1.3 Agrotóxicos: a classe dos herbicidas

Os inseticidas são o principal foco dos estudos toxicológicos em abelhas, porém em campo as forrageiras estão expostas a outros produtos químicos como os fungicidas e herbicidas, e os possíveis impactos causados por esses produtos não devem ser negligenciados (BAYLIS, 2000; GIANESSI, 2005; SCHREINEMACHERS e PRASNEE, 2012).

No Brasil existem 779 herbicidas registrados e 612 (79%) são produtos comerciais com apenas um ingrediente ativo, dentre estes o glifosato possui mais registros de produtos comerciais (n=104) e logo em seguida o 2,4-D (n=47) (AGROFIT, 2020). De acordo com o IBAMA, os herbicidas são “substâncias químicas que evitam, reduzem ou eliminam plantas infestantes (...) São utilizados para o controle químico das plantas consideradas daninhas nas lavouras, que competem por água e nutrientes com a planta cultivada, levando vantagens sobre estas e causando perdas nas culturas” (BRASIL, IBAMA, 2010).

1.1.4 Glifosato e sua toxicidade para abelhas

O glifosato é o segundo herbicida cujo uso aumentou amplamente nas últimas décadas, se tornando um dos agrotóxicos mais usados mundialmente (ZHANG *et al.*, 2011). No Brasil esse herbicida representa 30% do volume total de todos os pesticidas utilizados no país, sendo consumido anualmente 150 milhões de litros desse produto (TONI *et al.*, 2006). É indicado no controle de ervas daninhas anuais e perenes, monocotiledôneas ou dicotiledôneas, em culturas de arroz irrigado, cana-de-açúcar, café, citros, maçã, milho, soja, pinus, eucalipto, fumo, uva, ameixa, banana, cacau, nectarina, pera, pêssigo, seringueira, algodão e em pastagens (JUNIOR e SANTOS, 2002).

Este herbicida apresenta alta eficiência na eliminação de ervas daninhas, por esse motivo vem sendo amplamente utilizado por diversos produtores em ecossistemas agrários e em áreas não cultivadas desde que foi introduzido no mercado, em meados de 1970 (RUEPPEL *et al.*, 1977). Sua aplicação normalmente é através de pulverização nos cultivos, sendo absorvido através das folhas e caulículos novos e transportado por toda a planta (SCHUETTE, 1998). Este permanece nas culturas após a aplicação por longos períodos, podendo ser encontrado também em áreas próximas ao cultivo, devido não ser metabolizado pela planta, e assim toda a concentração do ingrediente ativo aplicado é encontrado na sua forma original (JUNIOR e SANTOS, 2002; TONI *et al.*, 2006).

Embora a baixa toxicidade relatada para animais, a introdução de culturas transgênicas resistentes ao glifosato tem aumentado cada vez mais a aplicação desse herbicida em áreas agrícolas podendo ter consequências para diversos organismos dentre eles as abelhas (TOLEDO E GUILLÉN, 2014).

Herbert *et al.* (2014) constataram que a exposição prolongada, durante os primeiros 15 dias de vida, de *Apis mellifera* a doses sub-letais do herbicida Glifosato causou prejuízos a capacidade de estímulos químio-sensoriais de um odor (odor-recompensa) e a aprendizagem, com redução da memória de curto prazo. Em contrapartida, não houve alteração na frequência e no ciclo de forrageamento à fonte de sacarose fortificada com doses agudas de Glifosato, demonstrando não repulsividade ao agrotóxico e possíveis consequências pelo acúmulo do herbicida na colmeia e nos produtos apícolas.

Thompson *et al.* (2014), ao avaliarem a exposição de abelhas *Apis mellifera* após contato com flores de *Phacelia* contaminadas com glifosato, notaram que os resíduos encontrados em amostras de néctar na colmeia subiram até um pico de 31,3mg de glifosato por quilo, em contraste com quantidades inferiores a 0,3mg por quilo, anterior a aplicação controlada.

Em estudo com *Apis mellifera* e *Tetragonisca angustula* expostas oralmente com concentrações de glifosato, Toledo e Guillén (2014) observaram que não houve diferença significativa na mortalidade a curto prazo entre as espécies e que as abelhas que se alimentaram de mais da metade da solução contaminada com o agrotóxico morriam mais rápido do que as abelhas alimentadas somente com a solução do controle.

1.1.5 2,4-D e sua toxicidade para abelhas

O 2,4-D foi o primeiro herbicida seletivo desenvolvido ainda nos anos 1940, é bastante utilizado para aplicação na pré- ou pós-emergência de plantas infestantes em cultivos de trigo, soja, milho, arroz, café, cana-de-açúcar e pastagens (NORTOX, 2015). O principal mecanismo apontado para ação desse herbicida nas plantas é a estimulação da produção de ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) sintase, enzima responsável pela biossíntese do hormônio etileno. O aumento da concentração deste hormônio acelera a senescência das plantas e, ao final, a morte (GROSSMANN, 2010).

Os produtos à base desse princípio ativo são considerados como potencialmente perigosos ao meio ambiente por serem altamente transportáveis, persistentes e tóxicos para organismos aquáticos, porém considerados pouco tóxicos para organismos do solo, aves e abelhas (REBELO; VASCONCELOS; BUYS, 2010). No entanto a reclassificação dos agrotóxicos feita pela ANVISA em 2019 alterou a classificação tóxica do 2,4-D de extremamente tóxica (classe I) para produto pouco tóxico (categoria 4) (BRASIL, 2019).

Almer Jones (1964), em campo, observou a mortalidade de abelhas adultas após aplicação aérea do herbicida 2,4-D, as abelhas foram encontradas rastejando na frente das entradas das colmeias e os enxames estavam extremamente fracos, e em experimentos

controlados verificou mortalidade 20% maior do que em abelhas que não receberam o herbicida.

Lunardi (2018), ao avaliar a toxicidade dos herbicidas 2,4-D e glifosato para abelhas *Apis mellifera* africanizadas campeiras e a ocorrência de alterações comportamentais em abelhas *Apis mellifera* africanizadas adultas campeiras em contato com dose letal e subletal dos herbicidas 2,4-D e glifosato de forma isolada e em associação, verificou que os herbicidas glifosato e 2,4-D foram tóxicos, desencadeando alterações motoras em abelhas *Apis mellifera* expostas por contato e ingestão, tendo efeitos tanto em doses letais quanto subletais.

REFERÊNCIAS

ALMER-JONES, T.P. Effect on honey bees of 2,4-D. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.7, n.3, p.339-342, 1964.

BASSIL, K. L, *et al.* Cancer health effects of pesticides: systematic review. **Can. Fam. Physician**, v. 53, n. 10, p. 1704-1711, 2007.

BAYLIS, A.D. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. **Pest Manag Sci.** v. 56, 299-308, 2000.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.htm. Acesso em: 22 out de 2019.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental. Rafaela Maciel Rebelo... [et al] - Brasília: Ibama, 2010.

BRASIL. NOTA TÉCNICA Nº24 / 2018 / SEI / CREA V / GEMAR / GGTOX / DIARE / ANVISA. Nota técnica conclusiva de reavaliação do ácido 2,4-Diclorofenoxyacético (2,4-D), com as respectivas recomendações e propostas de minuta de RDC para esse ingrediente ativo (atualiza e substitui o Parecer SEI nº 5/2018), Brasília, p. 1–22, 2019.

CALVETE, E.O. *et al.* Polinização entomófila de morangueiro cultivado em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira** 21: 281 (suplemento I), 2003.

COUTINHO, C.F.B. *et al.* Pesticidas: mecanismos de ação, degradação e toxidez. **Revista Toxicologia Meio Ambiente**, v.15, p.65-72, 2005.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2002.

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

EL HASSANI, A. K. *et al.* Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, Oxford, v. 82, n. 1, p. 30-39, 2005.

EVANS, J. D. *et al.* Colony collapse disorder: a descriptive study. **PloS one**, 4(8), 2009.

FLORES, A.V. *et al.* Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade** – Vol. VII nº. 2 jul./dez. 2004.

GALLO, D. O. *et al.* Toxicologia de inseticidas. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 920p. 2002.

GIANESSI, L.P. Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. **Pest Manag Sci.** 61, 241–245, 2005.

GILSON, I.K. *et al.* Agrotóxicos liberados nos anos de 2019-2020: Uma discussão sobre o uso e a classificação toxicológica. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v.6, n.7, p. 49468-49479, jul. 2020.

GROSSMANN, K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. **Pest Manag. Sci.**, v. 66, n. 2, p. 113-120, 2010.

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

IMPERATRIZ-FONSECA, V. Serviços aos Ecossistemas, Com Ênfase nos Polinizadores e Polinização Ecossistemas, 2004. Disponível em: [http://files.cesaiifce.webnode.com.br/200000020-bd221be1bb/Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização.pdf](http://files.cesaiifce.webnode.com.br/200000020-bd221be1bb/Serviços%20aos%20ecossistemas,%20com%20ênfase%20nos%20polinizadores%20e%20polinização.pdf). Acesso em 28 setembro, 2019.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. *et al.* **Polinizadores no Brasil: Contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: EDUSP. 2012.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A.; QUEIROZ, S. C. N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, São Paulo, v.32, n.4, p. 996-1012, abr. 2009.

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

JUNIOR, O.P.A.; SANTOS, T.C.R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim. Nova**. v. 25, 589-593, 2002.

KAMRIN, M. A.; Pesticide profiles – toxicity, environmental impact and fate, **CRC Press LLC**: Michigan, 1997.

KERR, W. E. *et al.* Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, n.12, p.20-41, 2001.

KRUPKE, C. H. *et al.* Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e29268, 2012.

LOPES, L. A.; DAL-FARRA, R. A.; ATHAYDES, Y. Relevância dos insetos em termos ecológicos e suas interações com o ser humano: contribuições para a educação ambiental. **Revista eletrônica educação ambiental em ação**, 2014. Disponível em: <http://www.revistaea.org/artigo.php?idartigo=1863>. Acesso em: 28 setembro, 2019.

LOPES, C.V.A.; ALBUQUERQUE, G.S.C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**. Rio de Janeiro, V. 42, N. 117, P. 518-534, 2018.

LUNARDI, Juliana Sartori. Efeito de doses letais e subletais de herbicidas sobre a mortalidade e alterações comportamentais de *Apis mellifera* L. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Botucatu, São Paulo, 2018.

MACÍAS-MACÍAS, O. *et al.* Contribution of native bees and Africanized honey bees (Hymenoptera: Apoidea) to Solanaceae crop pollination in tropical México. **Journal of Applied Entomology**, v. 133, n. 6, p. 456–465, 2009.

MALAGODI-BRAGA, K.S.; KLEINERT, A.M.P. Os meliponíneos e a polinização do morangueiro em estufas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13., Florianópolis, 2000. **Anais...** Florianópolis: 2000.

MALASPINA, O. *et al.* Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. Pp. 41-48. In: VIII Encontro sobre Abelhas. **Anais...**Ribeirão Preto, SP, Brasil. 763p. 2008.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. AGROFIT - Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 21 dez de 2020.

MARGNI, M. *et al.* Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 93, p. 379–392, 2002.

MIRANDA, J. E. *et al.* Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Apidologie**, v. 34, n. 4, p. 409-415, 2003.

MORITZ, R. F. A., J. *et al.* Research strategies to improve honeybee health in Europe. **Apidologie**. v. 41, p. 227-242, 2010.

MULLIN, C.A. *et al.* High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **PLoS One**, v.5, e9754, 2010.

- NORTOX 2,4-D. Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob n. 03009. Arapongas: NORTOX, 2015. Bula. Disponível em: http://www.nortox.com.br/files/produtos/bula/030302000000_13032015.pdf. Acesso em: 10 out. 2019.
- PHAM-DELÈGUE, M. H. *et al.* Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. *Apidologie*, **Les Ulis**, v. 33, n. 5, p. 425-432, 2002.
- PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, v. 36, n. 1, p. 27-48, 2010.
- PERES, F.; MOREIRA, J.C.; DUBOIS, GS. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F.; MOREIRA, J.C. **Agrotóxicos, Saúde e Ambiente**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003, p.21-41.
- PERUQUETTI, R.C.; TEIXEIRA, L. V.; COELHO, F. M. Introdução ao estudo sobre polinização. **Grupo de estudos sobre abelhas**. 2017. Disponível em: <http://www.ufac.br/ppgespa/polen>. Acesso em: 28 set. 2019.
- POTTS, S. G. *et al.* Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends Ecol. Evol.** 25(6), 345–353, 2010.
- REBELO, R; VASCONCELOS, R; BUYS B. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis -Brasília: IBAMA, 2010.
- ROAT, T. C. *et al.* Effects of Sublethal Dose of Fipronil on Neuron Metabolic Activity of Africanized Honeybees. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, n. 3, p. 456-466, 2013.
- ROCHA, M.C.L.S.A.; ALENCAR, S. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento. Brasília: Ibama, 2012.
- ROSELINO, A.C.; SANTOS, S.A.B.; BEGO, L.R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lapeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p. 154-158, 2010.
- RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 25, p. 517-528, 1977.
- SCHREINEMACHERS, P.; PRASNEE, T. Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. **Food Policy**. v. 37, 616–626, 2012.
- SCHUETTE, J. Environmental fate of glyphosate. Sacramento: Environmental Monitoring & Pest Management, Department of Pesticide Regulation, 1998. Disponível em: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/glyphos.pdf>. Acesso em: 10 out. 2019.

SINDIVEG (Brasil). Emprego do defensivo agrícola no Brasil. *In*: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal (Brasil). O que você precisa saber sobre defensivos agrícolas. 2018. Disponível em: <https://sindiveg.org.br/wp-content/uploads/2018/08/oquevoceprecisasabersobredefensivosagricolas.pdf>. Acesso em 30 de out. de 2019.

SILVA, G.R. *et al.* Aspectos bioecológicos e genético-comportamentais envolvidos na conservação da abelha Jandaira, *Melipona subnitida* Ducke (Apidae, Meliponini) e o uso de ferramentas moleculares nos estudos de diversidade. **Agricultural Entomology**, v.81, n.3, p.299-308, 2014.

SLAA, E.J. *et al.* Stingless bees in applied pollination practice and perspectives. **Apidologie**, Paris, v.37, p.293-315, 2006.

THOMPSON, H. M. Behavioral Effects of Pesticides in Bees – Their Potential for Use in Risk Assessment. **Ecotoxicology**, v.12, p.317-330, 2003.

THOMPSON, H. M. Behavioral Effects of Pesticides in Bees – Their Potential for Use in Risk Assessment. **Ecotoxicology**, v.12, p.317-330, 2003.

THOMPSON, H. M. *et al.* Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an example. **Integr. Environ. Assess. Manag.** v. 10, p. 463-470, 2014.

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

TOMÉ, H. V. V. *et al.* Imidacloprid-Induced Impairment of Mushroom Bodies and Behavior of the Native Stingless Bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Plos One**, v.7, n.6. 2012.
TOMÉ, H.V.V. *et al.* Reduced-risk insecticides in Neotropical stingless bee species: impact on survival and activity. **Ann Appl Biol.** v.167, p. 186–196, 2015.

TONI, L.R.M.; SANTANA, H.; ZAIA, D.A.M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Quim. Nova.** v. 29, p. 829-833, 2006.

VAN ENGELSDORP, D. *et al.* Colony collapse disorder: a descriptive study. **Plos One**, v.4, e6481, 2009.

VIEIRA, E. M. *et al.* Estudo da adsorção/ dessorção do ácido 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Quim. Nova**, 22, 305, 1999.

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

CAPÍTULO 2

2 Efeito dos herbicidas 2,4-D e glifosato na sobrevivência e comportamento de abelhas *Scaptotrigona aff. xanthotricha*

RESUMO

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito dos herbicidas glifosato e 2,4-D na sobrevivência e comportamento de abelhas *Scaptotrigona aff. xanthotricha*. Foram realizados testes de mortalidade e comportamentos mediante exposição por contato com herbicidas DMA e Roundup em doses de campo recomendadas para a cultura da soja. A mortalidade das abelhas foi contabilizada ao término de 24h corridas desde o momento do aprisionamento delas. O reflexo de extensão da probóscide (REP) foi avaliado a partir de três ofertas de alimento para cada abelha, onde foram observadas as respostas positivas e negativas. A avaliação da atividade motora foi realizada através de caixa de observação comportamental. A mortalidade nas doses maiores dos herbicidas diminuiu, indicando que as doses menores recomendadas comprometem mais sobrevivência das abelhas. Para o teste de extensão de probóscide houve diferenças significativas para a segunda ($z = 3,61$; $P = 0,0003$) e terceira oferta ($z = 3,29$; $P = 0,001$). E para o teste de locomoção houve diferenças significativas no tempo de corrida, abelhas contaminadas com Glifosato apresentaram tempo de corrida menor do que as abelhas que não entraram em contato com nenhum herbicida ou que entraram em contato com o herbicida 2,4-D. Sugerindo-se assim que o Glifosato aumentou a atividade locomotora das abelhas. Para o DMA não houve diferença significativa. Esses resultados apontam que os dois herbicidas testados causam impactos negativos na população de abelhas *Scaptotrigona aff. xanthotricha*. **Palavras-chave:** agrotóxico, abelhas nativas, alterações motoras, mortalidade.

ABSTRACT

Effect of 2,4-D and glyphosate herbicides on survival and behavior of *Scaptotrigona aff. xanthotricha* bees. The objective of this research was to evaluate the effect of the herbicides glyphosate and 2,4-D on the survival and behavior of *Scaptotrigona aff. xanthotricha* bees. Mortality and behavior tests were performed upon exposure by contact with DMA and Roundup herbicides at recommended field doses for soybean cultivation. The mortality of bees was counted at the end of 24 hours since the moment of their imprisonment. The proboscis extension reflex (REP) was evaluated based on three food offers for each bee, where positive and negative responses were observed. The assessment of motor activity was performed using a behavioral observation box. Mortality at higher herbicide doses has decreased, indicating that the recommended lower doses compromise bee survival. For the proboscis extension test, there

were significant differences for the second ($z = 3.61$; $P = 0.0003$) and third offer ($z = 3.29$; $P = 0.001$). And for the locomotion test there were significant differences in the running time, bees contaminated with Glyphosate had a shorter running time than the bees that did not come into contact with any herbicide or that came into contact with the herbicide 2,4-D. Thus suggesting that Glyphosate increased the locomotor activity of bees. There was no significant difference for DMA. These results indicate that the two herbicides tested have a negative impact on the population of *Scaptotrigona aff. xanthotricha* bees.

Keywords: pesticides, native bees, motor changes, mortality.

2.1 Introdução

As abelhas são polinizadores importantes para manutenção da biodiversidade e na produção de muitas culturas agrícolas, cerca de 70% das plantas cultivadas têm aumentado de produção em consequência da polinização promovida por esses polinizadores (KLEIN *et al.*, 2007) e na maioria dos ecossistemas agrícolas e naturais mundiais as abelhas são os principais polinizadores (BIESMEIJER & SLAA, 2006).

No Brasil, as espécies de abelhas nativas são as mais abundantes, sendo encontradas mais de 300 espécies distribuídas em 27 gêneros (SILVEIRA *et al.*, 2002), destacando-se o gênero melipona, que compreende aproximadamente, 65 espécies distribuídas pela região Neotropical (CAMARGO.; PEDRO, 2007). E dentre essas, o gênero *Scaptotrigona sp.* são consideradas as mais produtivas da Amazônia (CAMARGO.; PEDRO, 2013). As colônias deste gênero são bastante populosas, além de produzirem mel de boa qualidade (RAMALHO *et al.*; 1991; VENTURIERI.; IMPERATRIZ-FONSECA, 2000), apresentando assim características promissoras para a meliponicultura, podendo ainda serem direcionadas para polinização de culturas agrícolas.

Além dos benefícios de seus serviços de polinização, as abelhas apresentam produtos e subprodutos bastante valorizados economicamente, como: mel, pólen, própolis e geoprópolis (SILVA.; PAZ, 2012), mas sua importância interfere não apenas em aspectos sociais e econômicos, mas também em processos ecológicos ecossistêmicos sendo estas de fundamental importância na reconstituição de florestas tropicais e conservação de remanescentes, além de atuarem como bioindicadoras da qualidade ambiental (BALLIVIÁN, 2008).

Nas últimas décadas, o declínio de populações de abelhas tem causado preocupação tanto para meliponicultores e apicultores como também para pesquisadores, e esse declínio não tem sido atribuído a um único fator, e um desses fatores é a utilização intensa de agrotóxicos

na agricultura, pois a agricultura brasileira atual é altamente baseada no uso desses insumos (CHAM *et al.*, 2017). E entre esses agrotóxicos a classe dos herbicidas é uma de maior uso.

O uso incorreto e excessivo de agrotóxicos coloca em risco colônias de abelhas de matas próximas que visitam esse local ou que polinizam áreas de cultivo, pois seus resíduos ficam nas flores e contaminam o néctar e o pólen (NOCELLI *et al.*, 2012), impactando tanto na diversidade quanto na abundância e eficiência de polinização desses organismos (PINHEIRO.; FREITAS, 2010).

A intoxicação das abelhas por agrotóxicos deixou de ser relacionada somente com a exposição letal, resultando em abelhas mortas próximas à colmeia e passou a ser avaliada também através das contaminações subletais causadas às abelhas, não levando à morte imediata, mas prejudicando seu comportamento, desenvolvimento e capacidade de combater infecções, causando problemas crônicos provocados pela exposição em longo prazo (NOCELLI *et al.*, 2012).

Os herbicidas são considerados como seguros ou menos tóxicos para insetos não-alvos, como as abelhas, do que os inseticidas, por não apresentam a mesma rota metabólica de ação que os inseticidas (GISI.; SIEROTZKI, 2008). No entanto, o uso de herbicidas como glyphosate, 2,4-D, MSMA e paraquat tem apresentado toxicidade para insetos benéficos, como as abelhas (MONQUERO.; OLIVEIRA, 2018), ocasionando alterações nos padrões de comportamento e aprendizagem e capacidade de orientação (THOMPSON.; MAUS, 2007).

A forma de aplicação, como a pulverização foliar, possibilita que os herbicidas sejam carregados para locais externos ao plantio, o que permite que além da contaminação dos recursos coletados pelas abelhas durante suas atividades de forrageamento, essas substâncias contaminantes sejam levadas para dentro das colmeias gerando problemas nas colônias (CONNOLLY, 2013; GIESY *et al.*, 2000).

O glifosato e o 2,4-D são herbicidas usados em larga escala no Brasil. O 2,4-D é um herbicida utilizado para controle de ervas daninhas nas culturas de soja, milho, arroz, trigo e cana-de-açúcar, atuando como regulador de crescimento (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2003). A Resolução da diretoria colegiada - rdc nº 284, de 21 de maio de 2019 da ANVISA e do ministério da saúde, considera que, em virtude da ausência de evidências suficientes de efeitos graves à saúde na espécie humana ou em animais de experimentação, avaliadas segundo critérios técnicos e científicos atualizados, estabelece a manutenção do ingrediente ativo ácido 2,4- diclorofenoxiacético (2,4-D) em produtos agrotóxicos, no País, bem como determina medidas de mitigação de riscos à saúde e alterações no registro decorrentes da sua reavaliação toxicológica.

O glifosato é um herbicida de pós-emergência, largo espectro e não seletivo que apresenta elevada eficiência na eliminação de ervas daninhas (YAMADA.; CASTRO, 2007). É absorvido na planta através de suas folhas e caulículos novos, sendo então transportado por toda a planta, agindo nos vários sistemas enzimáticos, inibindo o metabolismo de aminoácidos (DILL *et al.*, 2010). Apesar de apresentar baixa toxicidade, os herbicidas a base de glifosato são os mais utilizados no mundo, sobre uma variedade de nomes que incluem o Roundup®, e os efeitos destes herbicidas podem ser nocivos e representar sérios danos a uma diversidade de espécies de insetos (JONES *et al.*, 2010).

Os problemas mais sérios com herbicidas nas colônias ocorrem quando as abelhas entram em contato direto com os herbicidas devido a problemas de deriva do produto da área agrícola para áreas próximas (MONQUERO.; OLIVEIRA, 2018) Estudos com herbicidas constataram que estes afetam a responsividade gustativa, desempenho de aprendizagem, alterações no tecido muscular de voo, capacidade cognitiva para voo, redução na produção de crias e mortalidade de abelhas expostas (HERBERT *et al.*, 2014; ABDALA *et al.*, 2016; JOHANSEN.; MAYER, 1990; KIDD.; JAMES, 1994), problemas que podem acarretar sérios prejuízos na manutenção das colônias.

A intoxicação por agrotóxicos pode ser determinada através do efeito letal, porém em algumas circunstâncias, o efeito desses produtos nas abelhas não pode ser notado imediatamente, sendo necessárias avaliações das doses subletais para que seja possível observar sua influência na sobrevivência e comportamento das mesmas (MEDRZYCHI *et al.*, 2003).

Testes comportamentais como o de reflexo de extensão da probóscide têm sido usados para monitorar as alterações comportamentais causadas nas abelhas pelo uso de agrotóxicos. Este método busca reproduzir em laboratório a interação entre a abelha e uma fonte de alimento e leva em consideração o processo de memorização da abelha a um determinado estímulo odorífero e tem-se mostrado eficiente nos estudos sobre os efeitos dos produtos no comportamento deste inseto (DECOURTYE *et al.*, 2005). Pode ser realizado após a exposição da abelha a algum químico, através do estímulo seguido de uma oferta de solução, geralmente de sacarose, para avaliar o limiar gustativo (ARMENGAUD *et al.*, 2002).

Outra forma de analisar o comportamento em abelhas é a avaliação do comportamento de orientação pela análise do voo da abelha, onde o tempo gasto no percurso pode ser utilizado como parâmetro (PHAM-DELÉGUE *et al.*, 2002). Comportamentos como comunicação pela dança, voos de retorno, orientação e eficácia durante visitas às flores, habilidade cognitiva de memória e aprendizagem podem ser alteradas pelas doses subletais de agrotóxicos (GOULSON *et al.*, 2015; PISA *et al.*, 2015).

Embora as abelhas não sejam o alvo dos herbicidas, esses produtos têm contribuído para o desaparecimento desses insetos, pois podem causar alterações na dinâmica de coletas de recursos e prejudicar as condições das colônias. Neste contexto se fazem necessários estudos que avaliem as alterações comportamentais ocasionados por herbicidas em abelhas, dessa forma o objetivo deste estudo foi avaliar a mortalidade e alteração comportamental de abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha* após exposição à dose de herbicidas 2,4-D e glifosato.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Local do experimento

A pesquisa foi desenvolvida no Meliponário da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), localizado no campus Tapajós em Santarém – Pará. Os testes experimentais foram realizados no laboratório de comportamento animal da UFOPA.

2.2.2 Animais e Colheita das abelhas

Foram utilizadas abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. Xanthotricha*, coletadas de três colmeias. As abelhas adultas foram coletadas pela manhã, utilizando vasilhas de plástico transparente fixada na entrada do da caixa por aproximadamente 10 minutos (Figura 1). Em seguida as abelhas foram conduzidas ao laboratório e anestesiadas em freezer a -10°C por 30 segundos.

Figura 1 - Coleta das abelhas *Scaptotrigona aff. xanthotricha*



Fonte: Autora (2020)

2.2.3 Herbicidas e doses utilizadas

Os herbicidas utilizados neste estudo são Roundup Original® e DMA® cujos princípios ativos são glifosato e 2,4-D respectivamente, registrados no Ministério da Agricultura, pecuária

e Abastecimento (AGROFIT, 2021). Os dois herbicidas estão entre os principais herbicidas utilizados na região metropolitana de Santarém, entre janeiro de 2013 a abril de 2018, o glifosato representou 51% do volume de agrotóxicos vendidos, totalizando 1.027.439L e o 2,4-D equivalendo a 7% do volume com 136.619L vendidos (SCHWAMBORN, 2019).

Para os testes de mortalidade foram utilizados a menor e maior doses comerciais indicadas pelos fabricantes nos rótulos dos produtos para a cultura de soja, sendo para menor dose 1 L/100L de água para 2,4-D e 0,875 L/100L de água para Glifosato e para maior dose 1,375 L/100L de água para Glifosato e 1,5 L/100L de água para 2,4-D.

Para o teste de comportamento foram utilizadas as maiores doses comerciais indicadas pelos fabricantes nos rótulos dos produtos para a cultura de soja, sendo 1,375 L/100L de água para glifosato e 1,5 L/100L de água para 2,4-D.

2.2.4 Testes de toxicidade e avaliação comportamental

2.2.4.1 Teste de mortalidade

Para o 2,4-D e o glifosato foram preparadas soluções diluídas em água destilada, para todas as diluições utilizadas considerou-se a recomendação do fabricante. As soluções foram agitadas durante a preparação e antes da sua utilização para garantir que estivessem sempre com a concentração adequada.

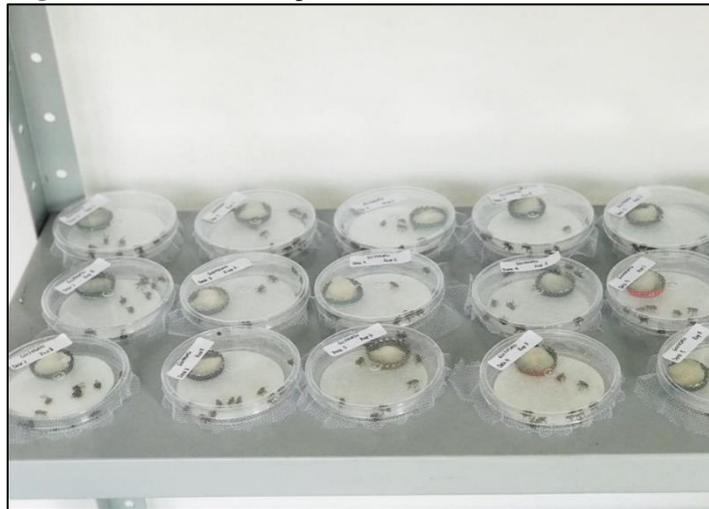
Para determinar a toxicidade dos herbicidas 2,4-D e glifosato foram utilizadas doses determinadas pelo fabricante como sendo a menor dose e a maior dose comercial indicadas nos rótulos dos produtos para a cultura de soja. Para que os testes fossem válidos a mortalidade média para os controles não excedeu 5% da amostra no final dos testes.

O teste foi conduzido de acordo com metodologia descrita por Dorneles et al., (2017) com modificações. Para o manuseio das abelhas, estas foram anestesiadas sob refrigeração em 30 segundos. Foram colocadas 10 abelhas campeiras em placas de Petri em temperatura ambiente em presença de luz com tecido filó usado como contenção (Figura 2). Tampas coroa metálicas foram utilizadas como alimentadores, dentro de cada tampa foi colocado um chumaço de algodão banhados com solução de 75% de água e 25% de mel. Como substrato de cada placa foi colocado papéis filtros, para o grupo controle os papéis filtros foram embebidos em água destilada e para os grupos de testes os papeis filtros foram embebidos nas soluções preparadas com a dosagem menor e maior de cada herbicida. Todos os papéis filtros tanto do grupo controle como o dos testes antes de serem dispostos dentro da placa de Petri foram secados em temperatura ambiente para diminuir o excesso de umidade. As placas com as abelhas foram

mantidas dentro do laboratório com temperatura entre $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

Para cada dose testada, foram utilizadas 10 abelhas e os testes realizados em três repetições. Abelhas que viessem a apresentar alterações comportamentais ou letargia anteriormente aos testes foram rejeitadas e substituídas por abelhas saudáveis. Decorridas 24h do início dos testes, o número de abelhas mortas em cada tratamento foi contabilizado. Foram considerados mortos os indivíduos que não manifestarem nenhum movimento durante o período observado.

Figura 2 - Indivíduos nas placas de Petri



Fonte: Autora (2020).

2.2.4.2 Teste de Reflexo de Extensão da Probóscide (REP)

Para a determinação da capacidade de suporte da população amostrada, buscando melhor realização do teste de REP, foram realizados pré-testes, onde primeiro foi observado quanto tempo as abelhas em cada placa de Petri suportavam o jejum até os primeiros indivíduos morrerem e, em seguida, foi observado quanto tempo os indivíduos ficavam em contato com a superfície intoxicada pelos herbicidas até as primeiras mortes acontecerem. Para o manuseio das abelhas, anestesiou-se os indivíduos em refrigeração por 30 segundos e 10 abelhas foram colocadas em cada placa de Petri com tecido filó usado para contenção. O resultado foi duas horas em jejum, duas horas em contato com o glifosato e duas horas em contato com o 2,4-D.

Para a avaliação da resposta ao teste de REP das abelhas expostas aos produtos comerciais com princípios ativos glifosato e 2,4-D, foram preparadas soluções baseadas nas maiores doses e recomendações do fabricante para aplicação na cultura da soja, sendo que para o glifosato a dose de 1,375 e para 2,4 D a dose de 1,5. Foram utilizadas 30 abelhas para cada herbicida que foram capturadas conforme descrito anteriormente e inseridas em grupos de 10

indivíduos em cada placa de Petri em contato com as maiores doses comerciais dos herbicidas, para cada herbicida teste foi realizado 3 repetições.

Após a exposição ao herbicida foi realizado o teste REP. Cada abelha foi aprisionada em cápsulas individuais feitas de mangueira de silicone com uma abertura tampada por tecido filó e a outra abertura com uma tampa de fita adesiva, para assim a abelha ficar com o movimento livre dentro de cada cápsula e poder realizar o comportamento de reflexo de extensão da probóscide através do tecido filó para alcançar o alimento oferecido (Figura 3).

Foram realizadas três ofertas de alimento (1 hora; 1:30 minutos; 2 horas) partindo do princípio de que a primeira oferta já seria suficiente para o aprendizado de curto prazo. Segundo Sandoz et al. (1995), no nível comportamental pode-se detectar a memória de curto prazo em nível de minutos, uma única tentativa leva a uma resposta que dura algumas horas nos animais, e as memórias de odor das abelhas podem perdurar por toda a vida de um indivíduo a partir desse primeiro contato. Então, neste presente trabalho optou-se por realizar três ofertas de alimento partindo do princípio de que a primeira oferta já seria suficiente para o aprendizado de curto prazo.

Para a oferta foram usadas hastes flexíveis de plástico com algodões em suas pontas, onde foi disponibilizada uma mistura de água e mel (25% mel e 75% água) para cada abelha, as hastes foram aproximadas das antenas de cada indivíduo durante 10 segundos para incentivar a extensão da probóscide e foram avaliadas as respostas positivas e negativas para cada uma das três ofertas realizadas.

Figura 3. Abelha aprisionada em cápsula de mangueira de silicone



Fonte: Autora (2020)

2.2.4.3 Teste de Locomoção

Para a realização do teste de locomoção soluções dos produtos comerciais com princípios ativos glifosato e 2,4-D foram preparadas baseadas nas maiores doses e recomendações do fabricante para aplicação na cultura da soja, sendo que para o glifosato a dose de 1,375 e para 2,4 D a dose de 1,5. Foram utilizadas 30 abelhas para cada herbicida e para o controle, totalizando 90 abelhas.

A atividade motora das abelhas campeiras foi avaliada 2 horas após sua exposição por contato às maiores doses dos herbicidas testados. A coleta e exposição das abelhas foram realizadas utilizando os mesmos métodos descritos para os testes de mortalidade.

O teste de avaliação da atividade motora foi realizado de acordo com Zaluski et al. (2015), em uma arena que consistia em caixa de observação de madeira ($80 \times 60 \times 4$ cm), com a parte frontal tampada por um vidro para permitir a visualização das abelhas. Internamente a caixa apresentava dez divisões formando raias de $50 \times 5 \times 4$ cm (Figura 4), com uma entrada individual em cada uma.

A caixa de observação permaneceu inclinada em 45° e na parte superior havia instalada uma lâmpada fluorescente para estimular o movimento das abelhas em sua direção, devido as abelhas apresentarem o comportamento de fototaxia positiva, sendo assim, durante os testes a luz do ambiente era apagada ficando acessa apenas a luz da lâmpada da caixa para atrair as abelhas em direção ao topo da caixa.

Para facilitar a visualização uma tampa de vidro transparente foi utilizada para fechar a arena e permitir a visualização das abelhas e uma tela de tecido filó foi usada para impedir que os indivíduos ultrapassassem a marcação de 50 cm e chegassem até a lâmpada.

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 03 tratamentos e 30 abelhas por tratamento. Para cada dose testada foram utilizadas 10 abelhas tratadas e todos os testes foram realizados em triplicata, além do controle. As abelhas que foram utilizadas nos testes foram colocadas em placas de Petri em contato com as doses de cada herbicida, exceto as pertencentes ao grupo controle, e em seguida todas foram inseridas individualmente em eppendorfs acoplados em cada raia da arena. Para o manuseio, os indivíduos foram anestesiados sob refrigeração por 30 segundos. Simultaneamente foram liberadas dez abelhas e anotado o tempo que estas levaram para percorrer 50 cm. O comportamento foi filmado utilizando uma câmera digital, e com o auxílio do temporizador da câmera foi quantificado o tempo que cada abelha gastou para percorrer o trajeto de 50 cm.

Figura 4 - Caixa de observação comportamental para o teste de locomoção



Fonte: Autora (2020)

2.2.4.4 Análises estatísticas dos resultados

Para o teste de mortalidade foi analisado o resultado da mediana do tempo de sobrevivência com intervalo confiança de 95%, usando o programa estatístico Minitab (MINITAB Inc, 2014).

As frequências de respostas positivas de extensão de probóscide entre os dois tratamentos e o grupo controle foram comparadas, separadamente para cada oferta de alimento. Também foram comparados os dados binários de respostas usando modelos de regressão logística, os quais foram implementados no programa R (R Core Team 2019). Os resultados foram demonstrados por meio de frequências brutas de respostas positivas, e frequências previstas pelos modelos de regressão logística, as quais foram plotadas usando o pacote effects do R (FOX.; HONG, 2009).

Para a análise estatística dos dados de tempo médio de duração da corrida entre o grupo controle e os dois tratamentos Glifosato e 2,4-D. Primeiramente foram examinados os pressupostos da análise de variância. Para isso foram utilizados os testes de Bartlett e Levene para homogeneidade e de Shapiro-Wilk para normalidade. Como os dados não apresentaram normalidade estes foram transformados pelo método de boxcox loglik e passaram, assim, a atender os pressupostos.

Os dados foram então submetidos à análise de variância (ANOVA) a 10% de significância pelo teste F. Quando observadas diferenças significativas, as médias foram comparadas entre si pelo teste Tukey a 10% de significância.

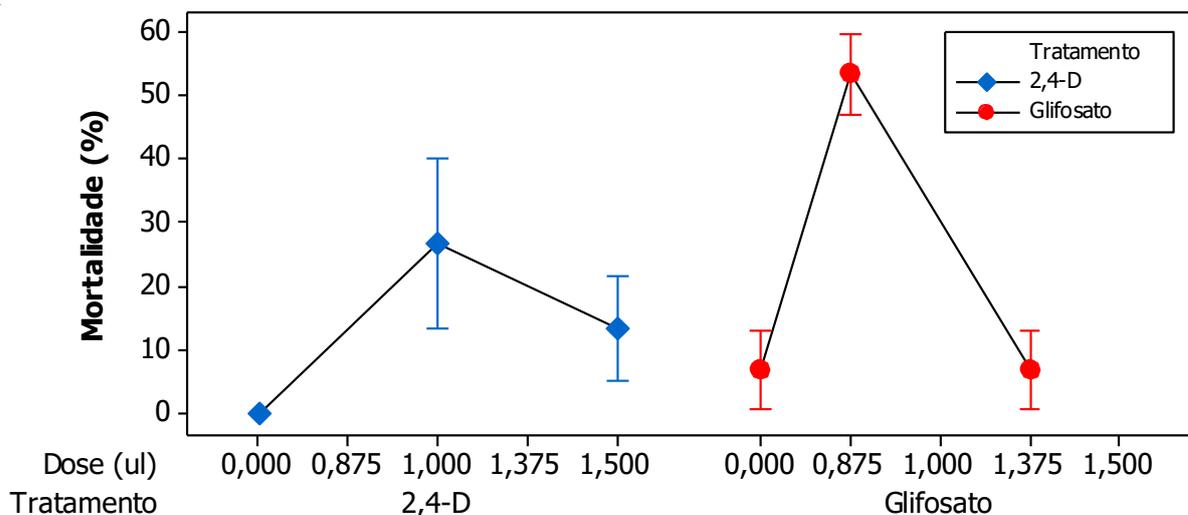
2.3 Resultados e Discussão

A rota de exposição das abelhas aos agrotóxicos é um fator determinante em sua capacidade de causar danos ao comportamento da colônia, viabilidade da colônia e a fisiologia da abelha. As principais rotas de exposição são tópicas, pois as abelhas podem ser encontradas na área de cultivo no momento da aplicação do herbicida e a oral pois os resíduos podendo ser encontrados em produtos que servem de alimento para as abelhas, como pólen e néctar.

2.3.1 Teste de mortalidade

Os resultados da Medianas e intervalos de confiança demonstraram que houve diminuição da mortalidade nas doses maiores indicadas pelo fabricante, indicando que as doses menores recomendadas comprometem mais a sobrevivência das abelhas em curto prazo (Figura 4). No entanto, sinais de intoxicação, como desorientação e dificuldade de locomoção na gaiola experimental foram observados para todos os ingredientes ativos nos grupos. Esse fato pode estar relacionado com a presença e ação de vários metabólitos, onde com baixas doses ocorre ação de metabólitos que atuam sendo responsável pela alta mortalidade. A maior dose dos herbicidas pode ter desencadeado a ação de enzimas desintoxicadoras que reduzem a mortalidade das abelhas, o que pode ter ocasionado de modo rápido sintomas de neurotoxicidade, que foram observados durante os testes, enquanto a mortalidade foi prolongada por mais horas.

Figura 5 - Mediana e intervalo de confiança da taxa de mortalidade (%) de *Scaptotrigona aff. xanthotricha* sob exposição por contato com os herbicidas a base de 2,4-D e Glifosato nas maiores e menores doses recomendadas pelos fabricantes.



Fonte: Autora (2020)

Esses resultados podem indicar que existe um limite de concentração dos princípios ativos de herbicida que poderiam desencadear uma reação no sistema fisiológico das abelhas, como por exemplo ativar as proteínas glutatona S-transferases (GST) e citocromo P450 (P450), que são proteínas presentes nos insetos, que degradam compostos como pesticidas e inseticidas (CLAUDIANOS *et al.*, 2006). A P450 está relacionada com a fase inicial da desintoxicação através da metabolização de substâncias químicas e a GST participa do processo de desintoxicação metabólica contra danos celulares (KETTERMAN *et al.*, 2011). Ainda, pode-se deduzir também que a dose pode desencadear uma rápida ou demorada reposta em ativar essa proteção celular através da degradação do herbicida. Esses efeitos sugerem que para os herbicidas como Glifosato em doses maiores induz a alterações metabólicas que não causam sua morte imediatamente, mas prejudicam a sobrevivência da colônia, pois permite que a abelha volte para a colônia e intoxique outros indivíduos.

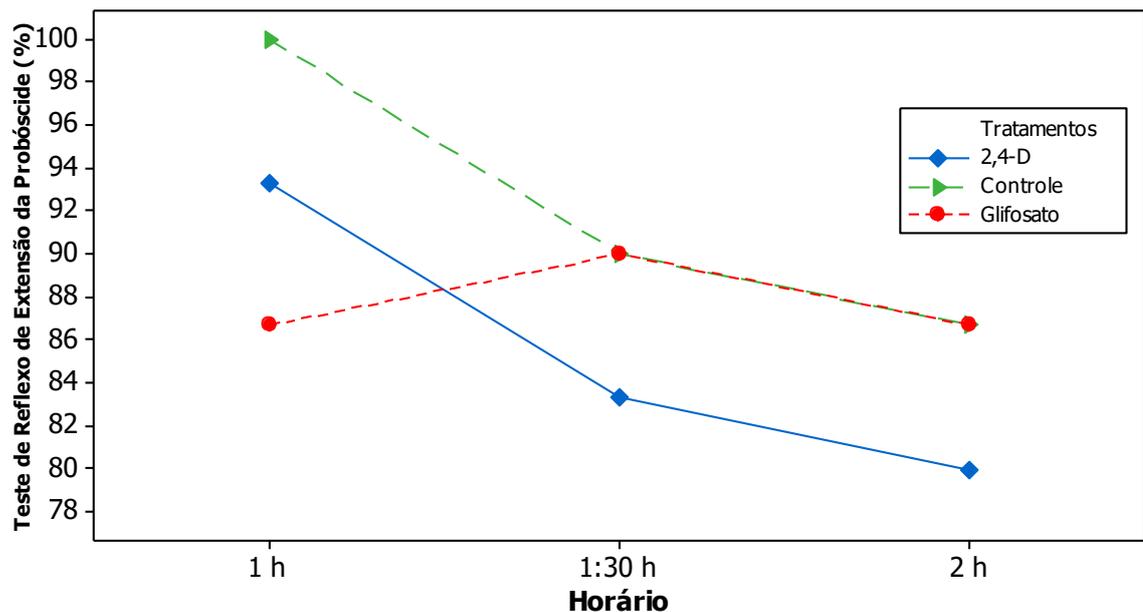
Meraz (2015) em estudo com diferentes agrotóxicos também observou mortalidade baixa para abelhas contaminadas com glifosato. Já, Gomes (2017) ao realizar bioensaios em laboratório utilizando abelhas *Melipona capixaba* e *A. mellifera*, constatou redução na sobrevivência em ambas as espécies causados pela exposição ao glifosato. Ruiz-Toledo e Sanchez-Guillén (2014) avaliaram a toxicidade das concentrações de campo do glifosato na mortalidade de duas espécies de abelhas, *Apis mellifera L.* e *Tetragonisca angustula Latreille*, e verificaram que a mortalidade nas abelhas submetidas a ingestão de metade da dose comercial sugerida do herbicida aumentou para quase cem por cento. Pesquisas com 2,4-D mostram que a exposição a esse herbicida apresenta efeito sobre a mortalidade de abelhas (ALMER JONES, 1964; LUNARDI, 2018).

2.3.2 Teste de Reflexo de Extensão da Probóscide (REP)

Para realização dos testes de reflexo da probóscide foram utilizadas as maiores doses dos herbicidas. Na Figura 5 temos a frequência de respostas positivas de extensão da probóscide, onde observa-se que há uma tendência de redução de respostas positivas no decorrer das ofertas de alimento. Nos grupos tratados com herbicida as frequências de respostas positivas foram mais baixas do que o grupo controle na primeira oferta de alimento, para o herbicida 2,4-D houve uma diminuição nas frequências de respostas. Na terceira oferta, pelo fato de os insetos ficarem mais tempo em contato com os herbicidas a presença de metabólitos tóxicos no organismo passa ser maior e, como consequência ocorre um maior comprometimento do comportamento analisado. Em relação a redução da sensibilidade à sacarose, danos na aprendizagem, dificuldades em estabelecer memórias associativas, e

consequentemente diminuição nas respostas entre as diferentes ofertas que foram observadas para o tratamento com o herbicida a base de glifosato, podem ser efeitos associados ao efeito do glifosato sobre a enzima acetilcolinesterase, uma vez que em insetos a transmissão de impulsos sinápticos de natureza química ocorrem através da ação de neurotransmissores, principalmente pela acetilcolina (GALLO, 2002).

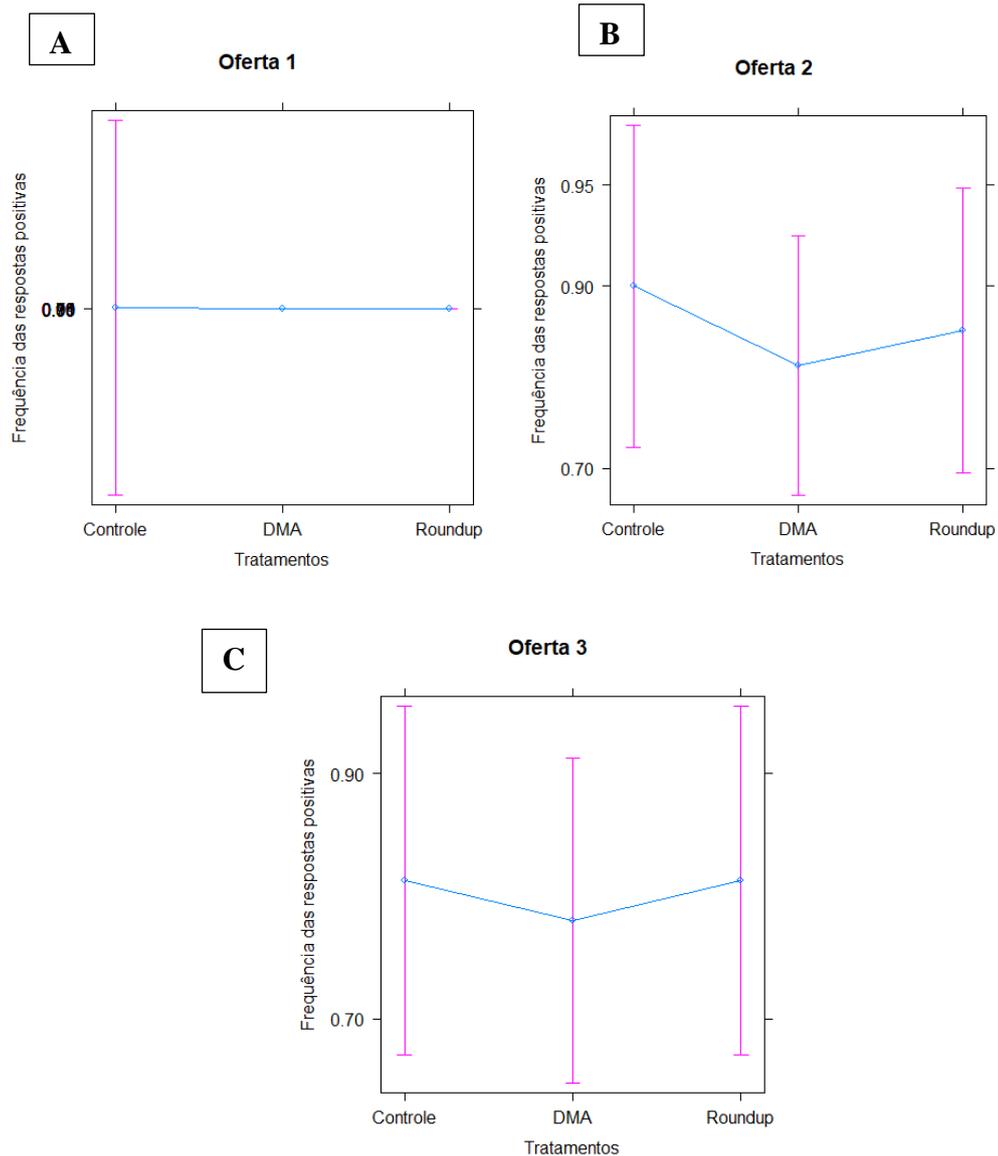
Figura 6 - Frequência de respostas positivas de extensão da probóscide das abelhas *Scaptotrigona aff. xanthotricha* após exposição às doses comerciais dos herbicidas a base de 2,4-D e Glifosato



Fonte: Autora (2020)

Ao analisar através dos modelos de regressão logística as proporções de abelhas que apresentaram reflexo de extensão da probóscide nos testes realizados (Figura 3), nota-se que a hipótese nula foi aceita para a primeira oferta ($P = 0,99$) e rejeitada para a segunda ($z = 3,61$; erro padrão = 0,61; $P = 0,0003$) e terceira oferta ($z = 3,29$; erro padrão = 0,49; $P = 0,001$). Esses resultados mostram que os efeitos da exposição aos dois herbicidas não foram expressivamente detectados logo na primeira oferta de alimento.

Figura 7 - Frequências de respostas positivas de extensão de probóscide previstas por modelos de regressão logística. A) Primeira oferta realizada aos três grupos. B) Segunda oferta realizada aos três grupos. C) Terceira oferta realizada aos três grupos



Fonte: Autora (2020)

A habilidade de aprendizagem das abelhas para detectar e habituar-se aos odores, baseada em sinais, denominada de resposta condicionada, pode ser afetada pela exposição a herbicidas à base de glifosato e 2,4-D e isto pode ter grande impacto sobre as colônias, em virtude da redução na capacidade de detecção dos odores florais e sua associação com a recompensa. Quando comparadas as respostas de REP de abelhas sem ferrão e *A. mellifera* foi observado que as abelhas nativas apresentam respostas mais baixas (MCCABE et al., 2007). Em estudo realizado por Herbert et al., 2014, foi verificado que o herbicida glifosato afeta a responsividade gustativa e o desempenho de aprendizagem em abelhas, por meio do teste de extensão de probóscide.

Decourtye et al., (2005) ao testarem intoxicação oral, perceberam que a exposição aos agrotóxicos usados não alterou o comportamento das abelhas, onde 66% delas responderam ao REP. Nesta pesquisa, onde foi realizada intoxicação por contato, observou-se que as diferenças

de respostas entre controle e herbicidas se apresentaram moderadas durante a mesma oferta, entretanto apresentou-se diferença de resposta entre uma oferta e outra para os herbicidas testados.

2.3.3 Teste de Locomoção

De acordo com a ANOVA, os tempos de corrida obtidos pelos diferentes tratamentos diferiram estatisticamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultado da análise de variância aplicada aos blocos e aos tratamentos de tempo de corrida

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F _{cal}	P
Tratamento	2	0,01324	0,00662	3,01600	0,05410
Resíduo	87	0,19095	0,00220		
Total	89	0,20419			

Em que: GL = Grau de liberdade; SQ = Soma dos quadrados; QM = Quadrado médio; F_{cal} = Valor de F calculado; p = significância do teste.

Fonte: Autora (2020)

Desse modo, foi aplicado o teste Tukey a 10% de significância e verificou-se que o resultado do glifosato teve diferença significativa dos tratamentos controle e 2,4-D (Tabela 2).

Tabela 2 - Média tempo de duração da corrida de abelhas entre um grupo controle e grupos de abelhas que tiveram contato com 2,4-D e Glifosato

Tratamento	Média
Controle	75,90 a
2,4-D	55,37 a
Glifosato	46,43 b

*Letras minúsculas diferentes na coluna significa diferença estatística (p<0,10).

Fonte: Autora (2020)

Assim, observou-se que as abelhas que entraram em contato com o herbicida Glifosato apresentaram tempo de corrida menor do que as abelhas que não entraram em contato com nenhum herbicida ou que entraram em contato com o herbicida 2,4-D. Sugerindo-se assim que o Glifosato aumentou a atividade locomotora das abelhas. Com isso, o comportamento de forrageamento pode ser afetado, visto que a atividade motora sofreu influência pelo contato com o herbicida que tem o princípio ativo glifosato, onde elas apresentaram-se mais ativas, não causando morte imediata, mas que ao retornar ao enxame podem carregar consigo contaminantes, ou que em longa exposição pode ocasionar movimentos descoordenados e

comprometer o retorno para a colônia. O voo é essencial para a atividade de forrageio das abelhas, como a colônia necessita desse serviço realizado pelas abelhas forrageiras, a alteração desse comportamento ocasionada pela exposição aos agrotóxicos pode diminuir o desempenho das abelhas em campo, interferindo na dinâmica da colônia (COLIN *et al.*, 2004). O glifosato é um organofosfonato que interfere na síntese da acetilcolinesterase, responsável pela hidrólise da acetilcolina (neurotransmissor central e periférico). A acetilcolina quando não é quebrada, acumula-se dentro da fenda sináptica, provocando uma grande estimulação das células-alvo, podendo afetar a locomoção e equilíbrio dos organismos expostos (GLUSCZAK *et al.*, 2006).

Foi possível observar ainda que o tempo necessário para as abelhas do grupo controle concluírem o percurso foi maior em relação ao 2,4-D e Glifosato. Entretanto, não houve diferença significativa para o Controle em relação ao 2,4-D, porém no tratamento 2,4-D movimentos descoordenados e desorientados, tremores, perda de controle postural foram observados. Esses resultados mostram que o herbicida causa neurotoxicidade nas abelhas, que são coerentes com as modificações comportamentais observadas, pois esse é um efeito predominante em animais intoxicados pelo 2,4-D (PEREIRA, 2006). Almer Jones (1964), encontrou várias abelhas rastejando na frente das entradas das colmeias depois de aplicação aérea de 2,4-D. Estudos feitos por Papaefthimiou *et al.* (2002) com dose menor (1 μM) de 2,4-D mostram efeitos como redução de cerca 70% da contração inicial, força e frequência cardíaca nas abelhas em menos de 20 minutos de exposição ao produto. A resposta da toxicidade de muitos compostos depende de fatores como tempo de exposição e organismo do indivíduo como idade, tamanho do corpo, especialização floral e período de voo (BRITAIN.; POTTS, 2011).

Lunardi (2018), ao avaliar a influência dos herbicidas 2,4-D e glifosato na locomoção de abelhas pôde observar que o glifosato também apresentou maior efeito sobre a atividade motora das abelhas e conseqüentemente podendo ser ainda mais tóxico quando se trata de causar distúrbios comportamentais. Em estudo com operárias de *A. mellifera* em exposição a doses subletais de glifosato foi demonstrado que as abelhas que entraram em contato com doses mais altas de glifosato apresentaram trajetória de voo alterada, o que indicou interferência na capacidade cognitiva (BALBUENA *et al.*, 2015). E de acordo com CHAM *et al.*, (2018) as abelhas sem ferrão podem ser mais sensíveis aos agrotóxicos do que *A. mellifera*. Para realizarem o forrageio as abelhas precisam da integridade de suas capacidades cognitivas relacionadas com a memória, para se orientar usando as informações ambientais adquiridas anteriormente para localização e reconhecimento de recursos alimentares e para seu retorno para a colônia (BALBUENA, *et al.*, 2015).

Alguns agrotóxicos como herbicidas e fungicidas podem ser considerados como seguros ou menos tóxicos para insetos não-alvos como as abelhas, por não apresentarem rota metabólica de ação desses agrotóxicos (GISI.; SIEROTZKI, 2008). Entretanto, os resultados apresentados nessa pesquisa confirmam que os herbicidas apresentam efeito negativo e risco a sobrevivência de abelhas. Pois, além dos efeitos de toxicidade aguda levando as abelhas a morte, doses subletais dos herbicidas podem provocar alterações comportamentais nos indivíduos que influenciam diretamente na manutenção da colônia.

A redução da disponibilidade de néctar e pólen é considerado como principal impacto ocasionado pelos herbicidas na população de abelhas (MONQUERO, et al., 2018), porém o efeito vai além disso, pois efeitos diretos podem também ocorrer, como alterações comportamentais, morfológicas e fisiológicas, redução na produção de crias e mortalidade (BALBUENA, et al. 2015; PAPAEFTHIMIOU et al. 2002; JOHANSEN.; MAYER 1990). Nos nossos resultados foram perceptíveis alguns desses efeitos como a alteração comportamental, além da mortalidade apresentada para as maiores e menores doses comerciais indicadas para os herbicidas 2,4-D e Glifosato, onde busca-se chamar atenção ao fato de que mesmos em doses menores os herbicidas são capazes de intervir na sobrevivência das abelhas e em alguns casos apresentando-se como mais tóxicas do que doses maiores como observado na mortalidade para o tratamento com Glifosato.

2.4 Conclusão

Os herbicidas 2,4-D e glifosato apresentam efeito negativo e risco a sobrevivência de abelhas da espécie *Scaptotrigona aff. xanthotricha*. Pois, além dos efeitos que levam as abelhas a morte imediata, podem provocar alterações comportamentais nos indivíduos que influenciam diretamente na manutenção da colônia.

REFERÊNCIAS

- ABDALA, F.C., *et al.* Efeito do cádmio e do glifosato na musculatura de mamangavas. **Ciência Tecnologia e Ambiente**, v.3, n.1, p.66-72, 2016.
- ALMER-JONES, T.P. Effect on honey bees of 2,4-D. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.7, n.3, p.339-342, 1964.
- AMARANTE JUNIOR, O.P. *et al.* Breve revisão de métodos de determinação de resíduos do herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). **Química Nova**, São Paulo, v.26, n.2, 2003.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Agrotóxicos. Dispõe sobre a manutenção do ingrediente ativo ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) em produtos agrotóxicos, no País. Brasília, 2019.
- ARMENGAUD, C.; LAMBIN, M.; GAUTHIER, M. Effects of imidacloprid on the neural processes of memory in honey bees. 2002. 85-100. In: Devillers, J.; Pham-Delègue, M. H. (Eds.). **Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, 2002.
- BALBUENA, M.S. *et al.* Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **The Journal of Experimental Biology**, v.218, p.2799-2805, 2015.
- BALLIVIÁN, J. M. P. P. (Org.) **Abelhas Nativas sem Ferrão – Myg Pe – Terra Indígena Guarita**, RS. São Leopoldo: Oikos, 128p, 2018.
- BIESMEIJER, J.C.; SLAA, E.J. The structure of eusocial bee assemblages in Brazil. **Apidologie**, n.37, p.240-258, 2006.
- BRITTAIN, C. & POTTS, S. The potential impacts of insecticides on the life history traits of bees and the consequences for pollination. **Basic Appl. Ecol.**, 12, 321–331, 2011.
- CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. Meliponini Lepeletier, 1836. **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. P. 272-578, 2007. Disponível em: <http://moure.cria.org.br/catalogue?=34135>. Acesso em: 22 out. 2019.
- CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. Meliponini Lepeletier, 1836. **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region – Online version**, 2013. Disponível em: <http://moure.cria.org.br/catalogue?=34135>. Acesso em: 22 out. 2019.
- CHAM, K., *et al.* Atual cenário da avaliação de risco de agrotóxicos para polinizadores no Brasil, pp.67-74 In: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE). **Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global**, Brasília: 2017. 124p.
- CLAUDIANOS, C. A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect molecular biology**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 615-636, 2006.

- COLIN, M.E. *et al.* A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. **Archives of Environmental Contamination Toxicology**, 47, 387-395, 2004.
- CONNOLLY, C. N. The risk of insecticides to pollinating insects. *Commun. Integr. Biol.*, v. 6, p. e25074, 2013.
- DECOURTYE, A. *et al.* Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination Toxicology**, 48:242–50, 2005.
- DILL, G. M. *et al.* Glyphosate: discovery, development, applications, and properties. In: Nandula, V. K. (Ed.). *Glyphosate resistance in crops and weeds: history, development, and management*. **Hoboken: Wiley**, p. 133, 2010.
- DORNELES, A.L.; ROSA, A.S.; BLOCHTEIN, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, v. 48, n. 5, p. 612-620, 2017.
- FOX, J.; HONG, J. Effect displays in R for multinomial and proportional-odds logit models: extensions to the effects package. *Journal of Statistical Software* 32(1): 1–24, 2009.
- GALLO, D. O. *et al.* Toxicologia de inseticidas. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 920p, 2002.
- GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Reviews of Environmental Contamination Toxicology**, v. 167, p. 35-120, 2000.
- GISI, U.; SIEROTZKI, H. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. *The Downy Mildews - Genetics*, **Molecular Biology and Control**, p. 157–167, 2008.
- GLUSCZAK, L. *et al.* Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, n. 2, p. 237–241, 2006.
- GOMES, I. N. **Bioensaios em laboratório indicam efeitos deletérios de agrotóxicos sobre as abelhas *Melipona capixaba* E *Apis mellifera***. 2017. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 51p, 2017.
- GOULSON, D. *et al.* Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides and lack of Flowers. **Science**, v.347, 2015.
- HERBERT, L. T. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **J The Journal of Experimental Biology**, v.217, p.3457-3464, 2014.
- JOHANSEN, C.A.; MAYER, D.F. **Pollinator protection: a bee & pesticide handbook**. **Cheshire: Wicwas Press**, 212p, 1990.

JONES, D. K.; HAMMOND, J. I.; RELYEA, R. A. Competitive stress can make the herbicide Roundup® more deadly to larval amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Pittsburgh, v.30 n.2, p.446-454, 2010.

KETTERMAN, A. J.; SAISAWANG, C.; WONGSANTICHON, J. Insect glutathione transferases. **Drug metabolism reviews**, v. 43, n. 2, p. 253-265, 2011.

KIDD, H.; JAMES, D.R. The agrochemicals handbook, 3rd ed. Surrey: Royal Society of Chemistry Information Systems, 313p, 1994.

KLEIN, A. M. *et al.* Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B*, v.274, p.303-313, 2007.

LUNARDI, J. S. 2018. **Efeito de doses letais e subletais de herbicidas sobre a mortalidade e alterações comportamentais de Apis mellifera L.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Botucatu, SP, 72p, 2018.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. AGROFIT - Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 21 dez de 2020.

MCCABE, S. I., *et al.* Odor discrimination in classical conditioning of proboscis extension in two stingless bee species in comparison to Africanized honeybees. **Journal of Comparative Physiology A**, 193(11), 1089–1099, 2007.

MEDRZYCKI, P. *et al.* Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 56, n.1, p. 59-62, 2003.

MERAZ, R. A. D. Efecto de seis plaguicidas sobre mortalidad en dos especies de abejas: Apis mellifera y Tetragonisca angustula. **Zamorano**, 2015.

Minitab Inc. *User's Guide 1: Using Session Commands and Macros*. Minitab Inc., Statistical Software, 2001.

MONQUERO, P.A.; OLIVEIRA, A.S. Os herbicidas causam impactos na sobrevivência e desenvolvimento de abelhas? **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.17, n.1, p.95-105, 2018.

NOCELLI, R.C.F. *et al.* Riscos de Pesticidas sobre as Abelhas. In: Semana dos Polinizadores, 3. Petrolina. **Palestras e resumos...** Petrolina: Embrapa Semiárido. (Embrapa Semiárido. Documentos, 249), 2012.

PAPAEFTHIMIOU, C. *et al.* The action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the isolated heart of insect and amphibia. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, n. 2, p. 127–140, 2002.

PEREIRA, A.P.C. Revisão a respeito da neurotoxicidade periférica do herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético. **Revista UNINGÁ**, n.8, p. 173-183, 2006.

PHAM-DELÈGUE, M. H. *et al.* Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. **Apidologie**, v. 33, n. 5, p. 425-432, 2002.

PINHEIRO, J. N.; FREITAS, B. M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 266-281, 2010.

Pisa, L.W. *et al.* Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, p. 68-102, 2015.

RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; KLEINERT-GIOVANNINI A. Ecologia nutricional de abelhas sociais. In: PANIZZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. (Org.) **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, p. 225-252, 1991.

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

SANDOZ, J. C., ROGER, B.; PHAM-DELÈGUE, M. H. Olfactory learning and memory in the honeybee: comparison of different classical conditioning procedures of the proboscis extension response. **C R Acad Sci Paris Sci Vie** 318:749–755, 1995.

SARAIVA, A. DE S. *et al.* Weed management practices affect the diversity and relative abundance of physic nut mites. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 5, p. 359-375, 2015.

SCHWAMBORN, T.M. 2019. **Expansão da fronteira agrícola, uso de agrotóxicos e riscos de exposição humana ao glifosato na região metropolitana de Santarém**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável). Universidade de Brasília, Brasília, DF, 143p, 2019.

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

SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte, Ministério do Meio Ambiente, 2002.

THOMPSON, H. M.; MAUS, C. The relevance of sublethal effects in honey bee testing for pesticide risk assessment. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 390–395. 2007.

VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. ***Scaptotrigona nighharta* e *Melipona melanoventer* (Apidae: Meliponinae): espécies Amazônicas com potencialidades para a meliponicultura**. In: Encontro sobre abelhas de Ribeirão Preto, 04, Ribeirão Preto, SP, p.356, 2000.

YAMADA, T.; CASTRO, P.R.C. Efeito do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. Encarte técnico. **Informações agronômicas**, n.119, 2007.

ZALUSKI R. *et al.* Fipronil promotes motor and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) and affects the development of colonies exposed to sublethal doses. **Environ Toxicol Chem** 34: p. 1062-1069, 2015.