

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARINA CARVALHO PERUZZOLO

EFEITOS DOS HERBICIDAS PARAQUAT E DIQUAT EM ABELHAS
Scaptotrigona bipunctata Lepeletier, 1836 (HYMENOPTERA: APIDAE)

PALOTINA
2018

MARINA CARVALHO PERUZZOLO

EFEITOS DOS HERBICIDAS PARAQUAT E DIQUAT EM ABELHAS
***Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836 (HYMENOPTERA: APIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado ao curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Luciana Grange

PALOTINA
2018

RESUMO

As abelhas exercem papel essencial na atividade de polinização, consideradas fundamentais para a manutenção da biodiversidade e ecossistemas naturais. Estes insetos agem perenizando espécies endêmicas, como também participam na polinização dos sistemas agrícolas. É crescente o número de relatos sobre o desaparecimento de diversas espécies de abelhas, sendo as causas desta diminuição ainda não comprovadas, apesar das hipóteses existentes. Acredita-se que uma causa em potencial poderia ser o intenso uso de agrotóxicos nas propriedades rurais, visando o controle de pragas agrícolas. Existe uma gama de produtos fitossanitários à disposição no mercado, contudo, nem sempre seus efeitos são adequadamente conhecidos ou bem descritos, sendo a grande maioria dos estudos nesta área voltados para a compreensão dos efeitos de inseticidas. Conquanto, os herbicidas utilizados na agricultura também podem influenciar na mortalidade dos polinizadores. Os herbicidas são utilizados para o controle de plantas daninhas e, frequentemente, para a secagem das culturas pré-colheita. Neste contexto, além de muitas plantas que produziram flores morrerem precocemente, as opções que restam para alimentação das abelhas podem ser contaminadas pelos agroquímicos. Estes fatores podem afetar negativamente a sobrevivência destes insetos, corroborando fortemente com o enfraquecimento das colônias. Os herbicidas paraquat e o diquat, são amplamente utilizados na agricultura, principalmente para a senescência das culturas de interesse e também no controle de plantas daninhas, porém pouco se conhece sobre seus efeitos indiretos, afetando organismos não-alvo, entre eles os polinizadores como as abelhas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a mortalidade das abelhas *Scaptotrigona bipunctata* submetidas à diferentes doses dos herbicidas paraquat e diquat, via contato e ingestão. Para tal, foram conduzidos dois experimentos, nos quais operárias foram expostas à contaminação. Ambos os experimentos foram conduzidos no delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 2 com tratamento adicional, em três repetições. Os tratamentos foram: dois herbicidas (paraquat e diquat), duas doses (50 e 100% da dosagem agronomicamente recomendada), além de um tratamento adicional sem contaminação (controle). Nos bioensaios, cada parcela foi composta por dez indivíduos coletados da entrada das caixas racionais, submetidos aos respectivos tratamentos e incubados em câmara B.O.D à 28°C durante 72 horas, sendo contabilizado o número de indivíduos mortos. Para o experimento de ingestão, os herbicidas, em ambas as doses, resultaram em maior mortalidade de abelhas em relação à condição controle, não diferindo entre si. Além disso, a dose de 100% resultou em maior toxicidade quando comparada à dose de 50%. Para a contaminação via contato, não houve aumento na mortalidade das abelhas pela intoxicação com os herbicidas. Dessa forma, conclui-se que a contaminação por ingestão com os herbicidas paraquat e diquat pode afetar a sobrevivência das abelhas sem ferrão, o que a longo prazo, pode alterar a viabilidade e a dinâmica das populações das abelhas *Scaptotrigona bipunctata*.

Palavras-chave: Abelha sem ferrão 1. Bioindicadores 2. Mortalidade 3. Toxicidade 4.

ABSTRACT

Bees play an essential role in pollinating activity, which are considered essential for the maintenance of biodiversity and natural ecosystems. These insects act by perpetuating endemic species, but also participate in the pollination of agricultural systems. It is increasing the number of reports about the disappearance of several species of bees, and the causes of this have not yet been proven, despite the existing hypotheses. One of the potential causes is the intense use of agrochemicals aiming at controlling agricultural pests. There is a range of phytosanitary products available on the market, however, the effects of these products are not always well known or well described, and the vast majority of studies are aimed at understanding the effects of insecticides. Though, herbicides used in agriculture can also influence the mortality of pollinators. Herbicides are used to control weeds and often for the drying of pre-harvest crops. In this context, in addition to the scarcity of plants that would produce flowers, consequently feed for bees, the remaining options for bees may be contaminated by agrochemicals. These factors can negatively affect the survival of these insects, corroborating strongly with the weakening of the colonies. Among these herbicides, paraquat and diquat, are widely used in the control of weeds and in the senescence of crops of interest. Still, they may present other indirect effects, affecting non-target organisms, including pollinators such as bees. Thus, the aim of this work was to evaluate the mortality of *Scaptotrigona bipunctata* bees submitted to different doses of the herbicides paraquat and diquat, via contact and ingestion. For this, two experiments were conducted, in which workers were exposed to contamination. Both experiments were conducted in a randomized complete block design in a 2 x 2 factorial scheme with an additional treatment in three replicates. The treatments were: two herbicides (paraquat and diquat), two doses (50 and 100% of the recommended dosage), plus an additional treatment without contamination (control). In the bioassays, each plot consisted of ten individuals collected from the entrance of the rational boxes, submitted to the respective treatments and incubated in B.O.D at 28°C for 72 hours, on which the number of dead individuals was computed. For the ingestion experiment, the herbicides, in both doses, resulted in higher bee mortality in relation to the control condition. The 100% dose resulted in higher toxicity when compared to the 50% dose. For contact contamination, there was no increase in bee mortality due to herbicide intoxication. Thus, it can be concluded that contamination by ingestion with the herbicides paraquat and diquat can affect the survival of stingless bees, which in the long term may alter the viability and dynamics of the populations of *Scaptotrigona bipunctata* bees.

Keywords: Stingless bees 1. Bioindicators 2. Mortality 3. Toxicity 4.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Entrada das colônias de <i>Scaptotrigona bipunctata</i> localizadas no meliponário da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina. (Arquivo pessoal)	18
Figura 2 – Estrutura química do paraquat, principal ingrediente ativo componente do herbicida paraquat (Helmozone®), utilizado nos bioensaios. (REIGART; ROBERTS, 2013).	19
Figura 3 – Estrutura química do dibrometo de diquat, principal ingrediente ativo componente do herbicida diquat (Reglone®), utilizado nos bioensaios. (REIGART; ROBERTS, 2013).	20
Figura 4 – Representação do bioensaio com os indivíduos após 72h de exposição aos agroquímicos. (Arquivo pessoal).	23
Figura 5 – Representação das unidades experimentais. (Arquivo pessoal)	23
Figura 6 – Representação do experimento incubado na câmara B.O.D. (Arquivo pessoal)	25
Figura 7 – Mortalidade (%) de <i>S. bipunctata</i> para os herbicidas diquat (linha vermelha) e paraquat (linha azul) em relação às doses comerciais (0, 50 e 100%), quando submetidas à contaminação por ingestão.	27
Figura 8 – Mortalidade (%) de <i>S. bipunctata</i> para as doses comerciais 0 (linha vermelha), 50 (linha verde) e 100% (linha azul), em relação aos herbicidas diquat e paraquat, quando submetidas à contaminação por ingestão.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	28
Tabela 2	28
Tabela 3	33
Tabela 4	34

LISTA DE ABREVIACÕES OU SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASCOM – Assessoria de Comunicao Social (Ministério do Meio Ambiente)

DDT – Dicloro-Difenil-Tricloro-Etano

DL50 – Dose Letal Média

LISTA DE SÍMBOLOS

® - Marca registrada comercial.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	14
	2.1 Objetivo Geral	14
	2.2 Objetivos Específicos	14
3	REVISÃO DA LITERATURA	14
	3.1 Abelhas sem ferrão	14
	3.2 <i>Scaptotrigona bipunctata</i>	17
	3.3 Herbicida – Paraquat	18
	3.4 Herbicida – Diquat	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
	4.1 Material Biológico	21
	4.2 Material Agroquímico	21
	4.3 Bioensaios	22
	4.3.1 Contaminação por Ingestão	24
	4.3.2 Contaminação por Contato	24
	4.4 Análise dos Dados	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
	5.1 Experimento de Mortalidade por Ingestão	26
	5.2 Experimento de Mortalidade por Contato	31
6	CONCLUSÃO	37
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
	7.1 Recomendações para trabalhos futuros	37
8	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A polinização é um dos serviços ecológicos essenciais para a manutenção de ambientes naturais e agrários. Os polinizadores ocupam importante função em grande parte do ecossistema terrestre, bem como, representa a chave para os serviços ecossistêmicos, para a manutenção da natureza e comunidades de plantas (AGUILAR et al., 2006; TIA-LYNN et al., 2004) e para a produtividade agrícola (KLEIN et al., 2007; RICKETTS et al., 2008). A polinização de insetos foi reconhecida como uma contribuição fundamental para melhorar produtividade de culturas agrícolas. Entre os insetos polinizadores, as abelhas ocupam uma posição privilegiada, pois podem ser empregadas em grande número auxiliando na polinização de diversas espécies (MARQUES ET AL., 2015; SINGH; SAINI; JAIN, 1999). É essencial que a importância de cada indivíduo seja reconhecida, da mesma forma os níveis mínimos de ecossistema, necessários para que sejam mantidas as funções ecossistêmicas e o serviço ambiental, visto que contribuem para o sistema como um todo (COSTANZA et al., 1997; EICH, 2015).

Dentre os polinizadores, as abelhas representam um grupo diverso que exerce papel fundamental nesse processo. O declínio das populações de abelhas tem sido relatado, sendo a utilização intensiva de agrotóxicos apontada como um dos principais fatores responsáveis por esse impacto (GOMES et al., 2017). O estresse toxicológico causado pelos agroquímicos e suas consequências nas abelhas tem sido intenso foco de debates. No entanto, a ênfase em abelhas melíferas e agrotóxicos têm negligenciado a relevância das abelhas sem ferrão, principais polinizadores de ecossistemas tropicais naturais (LIMA et al., 2016).

De extrema importância, 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, 2017).

Desde a consolidação das atuais práticas de manejo das lavouras, os polinizadores vêm sendo drasticamente ameaçados por ações antrópicas advindas, principalmente devido ao uso de agentes químicos de controle. Estes compostos podem levar à morte das abelhas que visitam as flores ou que fazem seus ninhos

em locais próximos (MARQUES et.al., 2015). As abelhas nativas constantemente sofrem redução da população devido ao uso indiscriminado de inseticidas e mudanças ambientais e, muitas vezes isso nem se quer é constatado (PEREIRA, 2010).

As abelhas brasileiras sem ferrão são responsáveis, conforme o ecossistema, por 40 a 90% da polinização das árvores nativas. Estas abelhas nativas pertencem à superfamília *Apoidea*, família *Apidae* e subfamília *Meliponinae*, esta última dividida em duas tribos: *Meliponini* e *Trigonini* (CARVALHO, 2006; KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996; RICKETTS et al., 2008).

O trabalho de polinização das abelhas se faz cada vez mais necessário, visto que é crescente a sua importância para produção de cereais, café, algodão e frutas de diversas espécies (MARQUES ET AL., 2015; SILVA; DA PAZ, 2012; SOMMER, 1997). Os polinizadores entomófilos, na agricultura, são responsáveis pela polinização de 75% das espécies vegetais cultivadas pelo homem, por exemplo, na produção do maracujá, na ausência das abelhas que realizam a polinização dessa planta, a polinização deve ser feita manualmente pelo homem, elevando os custos de produção (MARQUES ET AL., 2015). Além do que, os serviços ecossistêmicos da polinização correspondem a cerca de 10% do PIB agrícola, representando um valor acima de U\$ 200 bilhões/ano, no mundo (BARBOSA et al., 2017). Cerca de 75% das 240.000 espécies de plantas existentes no mundo dependem de alguma forma de polinização (pelo vento, água, insetos e outros) (FREITAS; PINHEIRO, 2010). As abelhas são consideradas os principais polinizadores responsáveis pela polinização de aproximadamente 73% das espécies cultivadas no mundo (RICKETTS et al., 2008). A agricultura brasileira já é beneficiada com a polinização de abelhas nativas, mesmo com as pequenas matas próximas às áreas cultivadas (HALINSKI; DORNELES; BLOCHTEIN, 2015; CHUTTONG et al., 2016). Como é o caso do cultivo do tomate, apesar de autopolinizado, quando suas flores são polinizadas por abelhas apresenta aumento na formação de frutos e na qualidade dos frutos (maior peso e tamanho) (MARQUES ET AL., 2015).

Estudos indicam que algumas substâncias utilizadas no controle de pragas na agricultura podem estar envolvidas em casos de intoxicação de abelhas. Os efeitos desses produtos podem não ser notados, mas podem causar sérios efeitos fisiológicos e comportamentais que acabam por comprometer os indivíduos e a

viabilidade da colônia, de uma maneira geral (CATAE, 2016), como também, estão em acelerado processo de desaparecimento, principalmente por causa da destruição dos seus habitats naturais (SOUZA, 2010). Mesmo em níveis mais baixos e com ausência de mortalidade significativa das abelhas forrageiras, os riscos da exposição ainda devem ser considerados uma vez que a exposição das abelhas a doses mais baixas pode ocasionar efeitos subletais (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Até pouco tempo, a intoxicação das abelhas por agrotóxicos estava relacionada exclusivamente à exposição letal (intoxicação aguda), a qual resulta em indivíduos mortos próximos às suas colônias (PIRES et al., 2016). Os efeitos subletais aos indivíduos da colônia podem não levar à morte imediata, mas podem afetar o comportamento, o desenvolvimento e o sistema imunológico, causando problemas crônicos provocados por exposição à longo prazo (FRAZIER et al., 2008; WHITEHORN et al., 2012).

Considerar o uso de herbicidas e outros pesticidas de forma isolada, pode não ser a principal ou única causa da mortandade e desaparecimento das abelhas nativas. Contudo, a combinação entre o uso intenso dos agroquímicos e seus efeitos, aumentam potencialmente a cascata de impactos (GOULSON et al., 2015). Neste viés, ainda não há estudos considerando a frequência do pólen contaminado como parâmetro, como também, ignoram os resíduos no mel ou néctar que podem contaminar os demais indivíduos da colônia (PHAM-DELÈGUE et al., 2002; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014).

O uso indiscriminado e irracional dos agrotóxicos nos agroecossistemas, especialmente os inseticidas e herbicidas, pode acarretar no desequilíbrio da população de abelhas que visitam os locais de plantio (MALASPINA et al., 2008), sendo difícil desvendar os reais impactos causados através do efeito cumulativo e sinérgico das excessivas aplicações (BRITAIN; POTTS, 2011).

A presença de abelhas nos campos significa menos produtos agroquímicos nas lavouras, a agricultura e a apicultura/meliponicultura não são negócios incompatíveis, muito pelo contrário, podem ser intensificados através do serviço ambiental prestado pelas abelhas (DOS SANTOS; OTESBELGUE; BLOCHTEIN, 2018; WOLFF, 2000). Posto isto, é fundamental o desenvolvimento de estudos sobre

os efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas e demais polinizadores, uma vez que são indivíduos fundamentais ao serviço ambiental.

Perante o art.10 da Constituição Federal (Decreto-Lei n.4.074 de 4 de janeiro de 2002), para que um novo agrotóxico possa ser registrado no Brasil, são exigidos testes toxicológicos com doses repetidas, de subagudas a crônicas, testes ecotoxicológicos de toxicidade a organismos aquáticos e terrestres (peixes, Daphnia, algas, aves, abelhas, microrganismos e organismos de solo) de acordo com o uso pretendido do produto (BRASIL, 2002). Contudo, como a agricultura se faz dependente, cada vez mais, do uso de agroquímicos para o controle de plantas daninhas, fungos, insetos e pragas a fim de assegurar a produtividade, é preciso que exista a viabilidade da aplicação destes produtos perante os grupos que prestam os serviços ambientais (THOMPSON, 2003).

Os herbicidas, o paraquat e o diquat estão na lista dos princípios ativos mais aplicados em culturas comerciais, visto que ambos são utilizados nos tratamentos de oleaginosas e leguminosas, esse intenso uso tem implicado em eventos de mortalidade das abelhas (MINEAU et al., 2008). Alguns produtos agrícolas, como herbicidas e fungicidas, podem ser vistos como seguros ou menos tóxicos que inseticidas para insetos não-alvos, como as abelhas, uma vez que estes não apresentam a mesma rota metabólica de ação que os inseticidas (GISI; SIEROTZKI, 2008). Porém, os autores Thompson e Maus (2007) consideram os efeitos de contaminação dos herbicidas, os quais incluem alterações nos padrões de comportamento e aprendizagem e capacidade de orientação.

Como é o caso do paraquat, o qual age diretamente na clorofila, necessitando, portanto, da presença de luz, promovendo estresse oxidativo, enquanto seus resíduos entram em contato com o solo, sendo rapidamente absorvido e ligando-se fortemente ao solo, não podendo ser reativado pela ação da água ou pela aplicação de outros agroquímicos (MARTINS, 2013). O herbicida diquat também é fortemente adsorvido quando em contato com o solo, com praticamente nenhuma dessorção (DE OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011). Tanto o paraquat, quanto o diquat são produtos considerados altamente persistentes no meio ambiente, demonstrando perigo relativo à todo o ambiente por sua permanência no meio (MARTINS, 2013).

Em setembro de 2017, ocorreu um processo de avaliação sobre a alta toxicidade do paraquat no meio ambiente, com isso, a Anvisa optou pelo banimento do produto a partir do ano de 2020. Toda comercialização do produto a partir desta data deverá ser registrada em um sistema informatizado (ASCOM/ANVISA, 2018). O produto paraquat já foi proibido em mais de 50 países, porém, ainda é comercializado livremente em 83 países (PUBLIC EYE, 2017). Neste contexto, o produto cotado pelo mercado do agronegócio para substituir o paraquat em seu banimento é o diquat (GOTTEMS, 2018). Contudo, sob o aspecto químico e funcional, os herbicidas paraquat e diquat possuem efeitos similares, sendo então, os dois produtos considerados tóxicos ao meio ambiente, suscitando uma indagação sobre efetividade do banimento e consequente substituição.

Em decorrência da escassez em estudos sobre os efeitos adversos dos herbicidas e outros pesticidas em abelhas sem ferrão (SOARES, 2012) e dos poucos trabalhos realizados mostrando que há susceptibilidade a ação dos agroquímicos (VALDOVINOS-NÚÑEZ et al., 2009), é importante que pesquisas sejam realizadas com organismos não alvo diante dos efeitos dos herbicidas (PEREIRA, 2010), visto que no Brasil há poucas informações sobre efeitos letais e subletais de defensivos agrícolas em geral sobre os polinizadores (PINHEIRO; FREITAS, 2010).

Tendo em vista a importância das abelhas nativas brasileiras como agentes polinizadoras, o frequente serviço prestado pela apicultura e meliponicultura ao sistema agrícola e a importante presença de áreas com matas preservadas nas proximidades das propriedades rurais, se faz fundamental o estudo dos efeitos subletais que os agroquímicos causam nas abelhas. Com isto, a hipótese deste trabalho é que os herbicidas paraquat e diquat podem apresentar influência sobre a mortalidade de abelhas da espécie *Scaptotrigona bipunctata*, especialmente quando estas são expostas à altas doses dos produtos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a mortalidade de abelhas sem ferrão da espécie *Scaptotrigona bipunctata* submetidas à ingestão e ao contato dos herbicidas paraquat e diquat.

2.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a mortalidade de abelhas sem ferrão da espécie *S. bipunctata* submetidas as doses de 50 e 100% da concentração do ingrediente ativo do herbicida paraquat após contaminação tópica e oral durante um período de tempo de 72h.
2. Avaliar a mortalidade de abelhas sem ferrão da espécie *S. bipunctata* submetidas as doses de 50 e 100% da concentração do ingrediente ativo do herbicida diquat após exposição tópica e oral durante um período de tempo de 72h.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Abelhas sem ferrão

As abelhas sem ferrão compõem um diverso grupo, incluindo mais de 400 espécies com alta variabilidade em suas fisiologia, morfologia e tamanho

(MICHENER, 2000; MOURE; URBAN; MELO, 2007). Dentre os polinizadores mais comuns nos ambientes tropicais, as abelhas sem ferrão são dominantes em diversas regiões, favorecendo a polinização de várias culturas agrícolas (MACÍAS-MACÍAS et al., 2009).

As abelhas brasileiras sem ferrão são responsáveis, conforme o ecossistema, por 40 a 90% da polinização das árvores nativas. Estas abelhas nativas pertencem à superfamília *Apoidea*, família *Apidae* e subfamília *Meliponinae*, esta última dividida em duas tribos: *Meliponini* e *Trigonini* (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996).

Evolutivamente as abelhas sem ferrão provêm de um grupo de vespas que deixaram de transmitir caracteres genéticos para a formação do ferrão aos seus descendentes (ALONSO, 1998). Todas as espécies de meliponíneos são eussociais, ou seja, vivem em colônias constituídas por um grande número de operárias, as quais realizam a função de construir e manter a estrutura física da colônia (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996).

No Brasil, as abelhas sociais nativas são popularmente conhecidas por abelhas indígenas sem ferrão, as quais constituem a superfamília *Apoidea*. O limite de distribuição ao sul do país encontra-se no estado do Rio Grande do Sul com predominância nos neotrópicos (NOGUEIRA-NETO, 1997). Várias técnicas de manejo desses insetos foram desenvolvidas, designada tecnicamente de “meliponicultura”, remetendo ao cultivo e extração do mel das abelhas sem ferrão (QUEZADA-EUÁN; MAY-ITZÁ; GONZÁLEZ-ACERETO, 2001). Um dos principais países de ocorrência das abelhas melíponas é o Brasil, sendo estas de suma importância para a ecologia dos diversos ecossistemas, como exemplo a polinização de grande parte da Mata Atlântica (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996).

Pelo menos 100 das mais de 400 espécies de meliponíneos conhecidas estão em perigo de extinção decorrente das ações antrópicas (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996). O risco de extinção relacionado às alterações ambientais ressalta a necessidade de realizar avaliações sobre os efeitos de agrotóxicos sobre estas abelhas (MORAES; BAUTISTA; VIANA, 2000).

A cultura relacionada às abelhas sem ferrão são ainda encontradas entre os povos indígenas (CAMARGO; POSSEY, 1990). Além de desempenharem um papel essencial na polinização, destacam-se também pela produção de mel e outros subprodutos, como própolis, cera e cosméticos (LOPES; FERREIRA; SANTOS,

2005). Dentre as espécies encontradas o gênero *Scaptotrigona* sp. são consideradas as mais produtivas da Amazônia (CAMARGO; PEDRO, 2013).

A importância dos serviços de polinização das abelhas sem ferrão vai além de espécies endêmicas, são também reconhecidas em culturas de interesse econômico a exemplo de algodão, café, laranja, maçã, soja, entre outras culturas amplamente difundidas no Brasil (IMPERATRIZ-FONSECA, 2004). Pela importância econômica e cultural de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, a determinação da toxicidade dos agrotóxicos para estas abelhas já é estudada antes mesmo da introdução do DDT em 1942, fato o qual, não é percebido em análises de toxicidade de agentes químicos em meliponíneos, apesar de demonstrarem efetiva contribuição aos ecossistemas, inclusive rural (MORAES; BAUTISTA; VIANA, 2000). Neste viés, é válido considerar que as abelhas sem ferrão também estão expostas ao uso dos pesticidas na agricultura e acabam sofrendo, de alguma forma, com os efeitos dessa contaminação (LOURENÇO, 2012).

De acordo com Magalhães & Venturieri (2010, p.37, apud ANTONIO, 2012, p.12) a divulgação sobre as abelhas sem ferrão ocorre, muitas vezes, por parte de instituições governamentais e não-governamentais, com objetivo de atrair os agricultores que estejam interessados na passividade das abelhas nativas e em práticas agroecológicas, dessa forma, incitam a sensibilidade e promovem a conscientização em relação à importância dos polinizadores.

No entanto, as abelhas sem ferrão encontram-se em processo de desaparecimento e como consequência algumas regiões do Brasil, como Sudeste e Sul, pouco conhecem sobre os sabores das abelhas nativas do país e seu grande valor medicinal (LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005). Dessa forma, a criação de abelhas sem ferrão é uma atividade positiva, além de seu potencial econômico, contribui para a manutenção e preservação dos ecossistemas. Preservar as abelhas contribui, portanto, com a conservação dos biomas e ecossistemas (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002).

3.2 *Scaptotrigona bipunctata*

Entre as abelhas pertencentes à tribo *Meliponini*, a *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier) (Hymenoptera: Apidae) está entre as espécies mais criadas em três biomas brasileiros (Pampa, Mata Atlântica e Pantanal) (CAMARGO; PEDRO, 2013). É conhecida popularmente como tubuna, canudo ou enrola-cabelo, pode ser encontrada na Bolívia, Brasil, Paraguai e Peru, com alta capacidade de produção melífera, podendo chegar a produzir 4L/ano (VENTURIERI; ALVES; VILLAS-BÔAS, 2012). As operárias de *S. bipunctata* apresentam algumas características que facilitam a sua identificação: possuem tamanho médio de 5,5mm, corpo de coloração preta, apresentam um grau de agressividade (beliscam com as mandíbulas e enrolam nos cabelos), comumente nidificam em ocos de árvores e em cavidades de paredes e possuem alto potencial para meliponicultura (WITTER; BLOCHTEIN, 2009).

A porta de entrada e saída do ninho é conhecida como entrada ou túnel de ingresso, possui importante função estratégica de defesa e geralmente sua morfologia está relacionada às características da espécie (VENTURIERI; ALVES; VILLAS-BÔAS, 2012), por ser uma espécie maior, a *S. bipunctata* possui um túnel de ingresso relativamente grande, similar à um tubo, de onde origina seu nome popular (NOGUEIRA-NETO, 1997) (Figura 1). Neste tubo há uma parte externa e outra interna (WITTER; NUNES-SILVA, 2014), na região exterior há uma ampla entrada onde as abelhas forrageadoras, ventiladoras ou defensoras podem se posicionar (ROUBIK; ROUBIK; VERLAG, 2006). Assim como todas as abelhas sociais, a *S. bipunctata* também apresenta complexas interações sociais dentro de seus ninhos (JUNGNICKEL et al., 2004). Suas colônias são populosas e possuem um aroma específico, semelhante ao cheiro de óleo de coco. Apresentam grande potencial como polinizadoras, pelos estratos que alcançam. Porém, pesquisas recentes revelam sua susceptibilidade à agroquímicos, acarretando em seu sumiço no meio ambiente (MOREIRA et al., 2018).



Figura 1 – Entrada das colônias de *Scaptotrigona bipunctata* localizadas no meliponário da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina. (Arquivo pessoal).

3.3 Herbicida - Paraquat

O paraquat é um herbicida de nitrogênio quaternário, de fórmula 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo (Figura 2), sendo amplamente utilizado para a dessecação de culturas agrícolas e no controle de plantas daninhas. É um composto de ação rápida, não age seletivamente, destruindo o tecido de planta verdes ao entrar em contato, translocando-se dentro da planta. Este herbicida é considerado vantajoso por apresentar forte afinidade com o solo, favorecendo a adsorção às partículas do solo e à matéria orgânica (FAIRBROTHER et al., 2014).

Estudos acerca dos mecanismos de toxicidade do paraquat têm sido realizado há décadas, para tanto, se identificou vários resultados de reações tóxicas, podendo levar a formação de espécies reativas de oxigênio mais tóxicas (BELARMINO, 1992). Como também, a potencialização da toxicidade induzida por paraquat em animais expostos a diferentes concentrações pode contribuir para agravar a toxicidade molecular (LABOISSIÈRE DEL SARTO, 2009). A principal causa de morte por intoxicação do herbicida paraquat ocorre pela insuficiência respiratória (HONORE et al., 1994).

Ao utilizar agroquímicos, além dos inseticidas, efeitos não intencionais do uso estão surgindo, acarretando em severas consequências (LIMA et al., 2016). Além disso, não somente o produto deve estar embalado e etiquetado devidamente,

rotulado com as palavras “perigo” e “veneno”, mas também, é considerado um Pesticida de Uso Restrito (PUR), ou seja, só pode ser manipulado e aplicado por pessoas certificadas (KAMRIN, 1997). Os inseticidas neurotóxicos, como neonicotinoides, piretróides, organofosforados, carbamatos e os herbicidas da classe bipyridílios são compostos conhecidos por serem altamente letais para os insetos, e, ainda assim, estão entre os agroquímicos mais utilizados na agricultura (VALDOVINOS-NÚÑEZ et al., 2009).

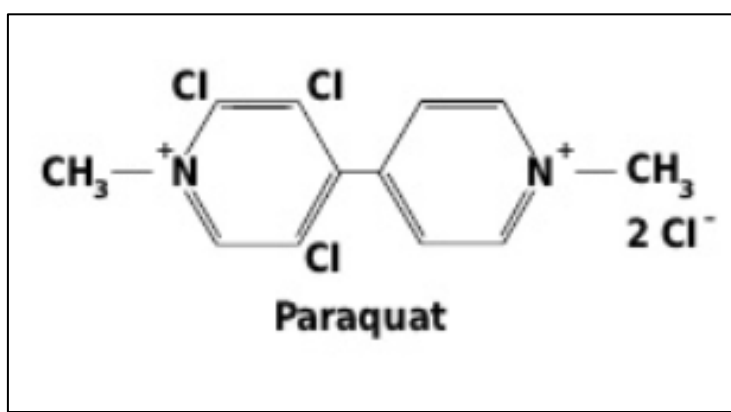


Figura 2 – Estrutura química do paraquat, principal ingrediente ativo componente do herbicida paraquat (Helmoxone®), utilizado nos bioensaios. (REIGART; ROBERTS, 2013).

3.4 Herbicida – Diquat

O herbicida dibrometo de diquat, de fórmula 1,1'-etileno-2,2'-bipiridilo (Figura 3). O dibrometo de diquat é um herbicida não seletivo, de ação rápida, o qual regula o crescimento de plantas, causando lesão apenas nas partes da planta onde é aplicado. Em campo, o produto é utilizado como dessecantes das culturas, como a batata, soja, feijão, milho, para controlar o florescimento da cana-de-açúcar e, para controlar as plantas daninhas e aquáticas. É considerado não residual, ou seja, não deixa vestígio de herbicida nas plantas, no solo ou na água (KAMRIN, 1997).

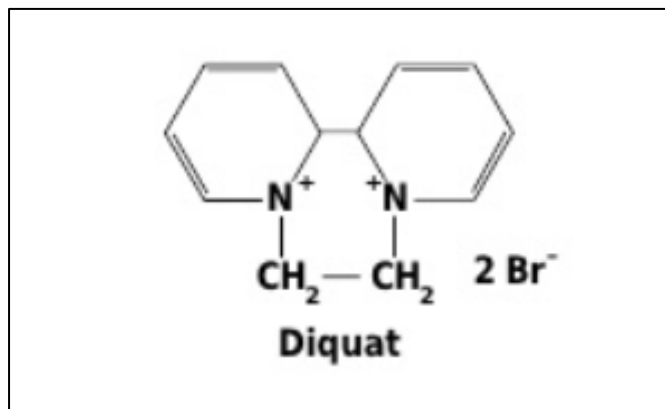


Figura 3 – Estrutura química do dibrometo de diquat, principal ingrediente ativo componente do herbicida diquat (Reglone®), utilizado nos bioensaios. (REIGART; ROBERTS, 2013)

Avaliações de toxicidade dos herbicidas paraquat e diquat já foram desenvolvidas em mamíferos determinando possíveis efeitos toxicológicos (LITCHFIELD; DANIEL; LONGSHAW, 1973). A maioria dos casos de intoxicação em animais domésticos é causada pela ingestão da vegetação contaminada, sendo que a dose letal média (DL50) por ingestão oral varia de acordo com a espécie (SANTOS et al., 2012). Para o herbicida paraquat, muitos experimentos já foram desenvolvidos a respeito de sua toxicidade em diversas espécies de abelhas (FERMINO et al., 2011; LIMA et al., 2016; RUVOLO-TAKASUSUKI et al., 2015). Larvas de *Apis mellifera* expostas a diferentes concentrações de paraquat no alimento apresentaram problemas no seu desenvolvimento embriônico, condensação do citoplasma e formato irregular de células, mesmo com a menor dose utilizada (COUSIN et al., 2013). Contudo, após intensas buscas sobre experimentos realizados com abelhas sem ferrão submetidas ao herbicida diquat, não foi encontrado nenhuma publicação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material biológico

Os bioensaios foram realizados com abelhas operárias adultas da espécie *Scaptotrigona bipunctata*, as quais foram coletadas no meliponário localizado na Universidade Federal do Paraná - UFPR, setor Palotina, próximo ao fragmento de Mata Atlântica, no município de Palotina, Paraná. A coleta dos indivíduos foi realizada utilizando potes plásticos, os quais foram posicionados na entrada dos ninhos para coleta. As abelhas capturadas foram expostas à diferentes concentrações de agroquímicos, os herbicidas paraquat e diquat. As formas de exposição do material foram via contato e por ingestão. Após o término de cada experimento os indivíduos sobreviventes foram sacrificados.

4.2 Material agroquímico

Os experimentos foram realizados com dois herbicidas diferentes, o paraquat e o diquat, comercialmente conhecidos como Helmozone® e Reglone®, os quais possuem as concentrações de 276 g.i.a/L de dicloreto de paraquate e 200 g.i.a/L dibrometo de diquate, respectivamente. Os produtos comerciais foram diluídos em água destilada até a obtenção das concentrações ideais, correspondentes à 50 e 100% da concentração do ingrediente ativo recomendada na bula dos produtos para a utilização nas culturas da soja e do milho.

4.3 Bioensaios

Ambos os experimentos avaliando ingestão e contato, foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados, como também, cada experimento foi realizado contendo três repetições. Os experimentos foram conduzidos sob esquema fatorial 2 x 2 com um tratamento adicional, no qual os fatores testados foram os produtos paraquat e diquat e as doses 50 e 100% da concentração de ingrediente ativo utilizada para as culturas da soja e do milho, além de um controle, sem a contaminação com os herbicidas.

Os bioensaios foram montados em potes de vidro após a coleta das abelhas, as quais foram colocadas no freezer por aproximadamente um minuto, com o objetivo de sensibiliza-las e facilitar o manuseio. Em seguida, os indivíduos foram colocados em frascos de vidro com capacidade volumétrica, de em média, 500mL (altura: 13,5cm; diâmetro: 8,65cm), tampados com tecido *voil*. Dentro de cada frasco haviam um papel filtro embebido com o herbicida em teste, quando na exposição via contato, um recipiente com algodão úmido e um recipiente com o alimento *candy*, sem contaminação. Quanto ao bioensaio via ingestão o alimento estava contaminado e não o papel filtro, nem o algodão úmido. (Figura 4 e 5).

Para cada concentração e forma de exposição foram realizadas três repetições contendo dez indivíduos por unidade amostral. As concentrações de gramas do ingrediente ativo (g/ i.a) utilizadas para o herbicida paraquat e para o herbicida diquat foram as seguintes 3×10^{-2} , $1,5 \times 10^{-2}$, correspondendo, respectivamente, às porcentagens de 100% e 50%. No tratamento controle não houve qualquer contaminação.

Para o desenvolvimento da metodologia e elaboração dos bioensaios a metodologia foi adaptada de Moraes; Bautista & Viana, 2000 e Pereira, 2018.



Figura 4 – Representação do bioensaio com os indivíduos após 72h de exposição aos agroquímicos. (Arquivo pessoal)



Figura 5 – Representação das unidades experimentais. (Arquivo pessoal).

4.3.1 Contaminação por ingestão

Para realizar a exposição ao agroquímico por ingestão, foi fornecido o alimento *candy*, contaminado com os herbicidas paraquat e diquat nas diferentes concentrações previamente estabelecidas. Para o tratamento controle, foi fornecido apenas o alimento, sem contaminação. Para o fornecimento do alimento, o mesmo foi disposto em um pequeno recipiente, com pequenas escoras para evitar que as abelhas pudessem se afogar, servir de apoio e garantir que a alimentação fosse eficiente. No interior dos frascos de vidro foram colocados alimento, papel filtro e um recipiente contendo algodão embebido em água. As parcelas foram avaliadas durante um período de tempo de 72 horas, sendo realizada a contagem das operárias mortas. Os indivíduos sobreviventes foram sacrificados após o final do experimento.

4.3.2 Contaminação por contato

Para a exposição aos agroquímicos por contato os experimentos foram realizados utilizando papel filtro embebido nas concentrações supracitadas de solução aquosa dos herbicidas paraquat e diquat, nos quais os indivíduos permaneceram expostos durante 72 horas. Após secagem do papel filtro na capela, os frascos foram montados, contendo também um recipiente com alimento *candy*, sem contaminação, e um recipiente com algodão embebido em água. No bioensaio do controle, o papel filtro foi embebido com o mesmo volume de água. Os bioensaios permaneceram em câmara incubadora B.O.D (Figura 6) a 28° C e umidade relativa de 70% ± durante 72 horas. Os indivíduos mortos foram então contabilizados e os sobreviventes foram sacrificados ao final do experimento.



Figura 6 – Representação do experimento incubado na câmara B.O.D. (Arquivo pessoal)

4.4 Análise dos dados

Para a análise estatística dos dados do percentual de mortalidade de *S. bipunctata* por contato e por ingestão, primeiramente foram examinados os pressupostos da análise de variância. Para isso foram utilizados os testes de Bartlett (heterocedasticidade) e de Shapiro-Wilk (normalidade dos resíduos) a 5% de significância. Os dados foram então analisados pela análise de variância (ANAVA) a 5% de significância pelo teste F. Quando observadas as significâncias, as médias foram comparadas entre si pelo teste Tukey a 5% de significância. As análises foram realizadas utilizando o pacote Exp.Des (FERREIRA et al., 2014) do *software* R (R CORE TEAM, 2018).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Experimento De Mortalidade Por Ingestão

Inicialmente, por meio de uma análise exploratória foi possível verificar como ocorreu a variação do percentual de mortalidade de *S. bipunctata*, para o fatorial produto x dose. (Figura 7). Analisando a figura pode-se perceber uma tendência de que a contaminação das abelhas pelos herbicidas pode apresentar algum efeito sobre a mortalidade das abelhas em relação à condição controle, quando as mesmas não foram contaminadas por ingestão, principalmente na dose 100%. Além disso, a diferença entre os herbicidas não parece ser grande, especialmente na dose 50%. De qualquer maneira é necessário confirmar se essas tendências apresentam evidência estatística, e para tal foi realizada a análise de variância, pelo teste F a 5% de significância.

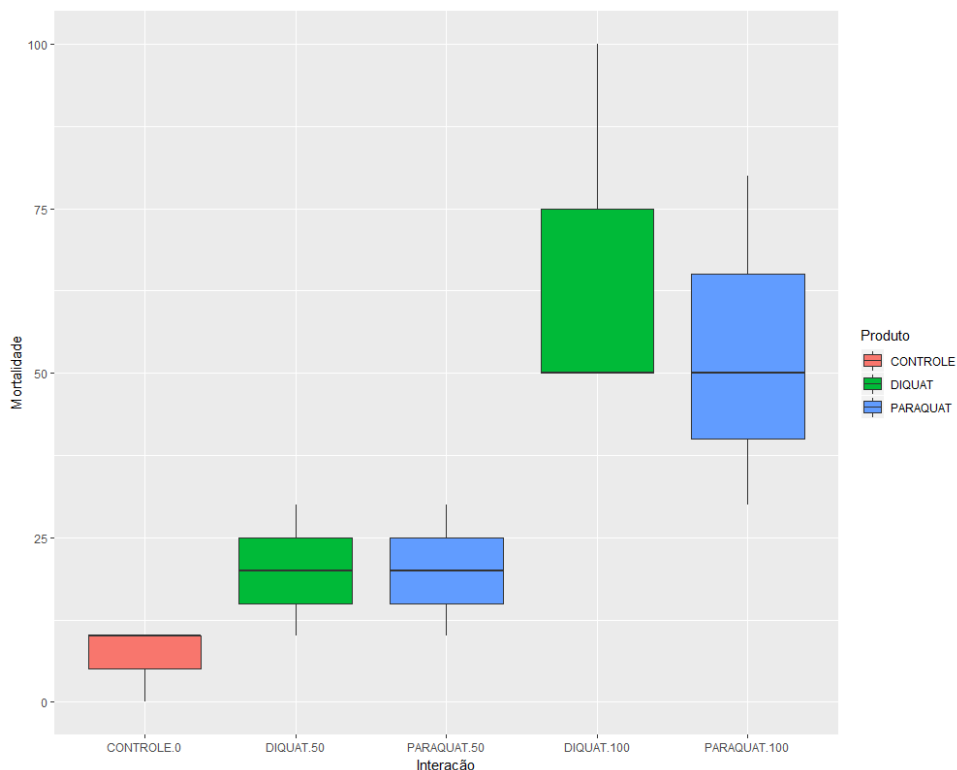


Figura 7 – Mortalidade (%) de *S. bipunctata* sob contaminação por ingestão com os herbicidas diquat (caixa verde) e paraquat (caixa azul) nas doses 50 e 100% da dose comercial e ao tratamento controle, sem inoculação (caixa vermelha).

Para realização da ANAVA, primeiramente foi investigado se os pressupostos da análise de variância foram atendidos. Como não foram verificados efeitos significativos para os testes de Bartlett (heterocedasticidade) e Shapiro-Wilk (normalidade dos resíduos) a 5% de significância admitiu-se que os conjuntos de dados analisados apresentam homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos e, portanto, pôde-se proceder a ANAVA.

Pela ANAVA, para a mortalidade de *S. bipunctata* por ingestão, não foi observado efeito significativo para a interação Produto*Dose, para o efeito de bloco e para o efeito simples de produto. Porém, foi observado significância para o efeito do fatorial em relação ao controle (Controle x Fatorial) e para o fator dose (Tabela 1).

Tabela 1- Análise de variância da mortalidade de *S. bipunctata* quando submetida à contaminação por ingestão de paraquat e diquat em diferentes doses.

FV	GL	SQ	QM	F	P
Bloco	2	893.33	446.67	1.4255	0.2954
Produto	1	133.33	133.33	0.4255	0.5325
Dose	1	4800	4800	15.319	0.0045*
Produto*Dose	1	133.33	133.33	0.4255	0.5325
Controle x Fatorial	1	2666.7	2666.7	8.5106	0.0194*
Resíduo	8	2506.7	313.33		
Total	14	11133			

CV = 6.0 %

FV: Fonte de variação, GL: Graus de liberdade, SQ: Soma de quadrados, QM: Quadrado médio, F: Valor da estatística F, p: p valor.

*p<0.05.

A ausência de efeito significativo para a interação demonstra que os produtos e as doses possuem comportamento independente, ou seja, a dose de paraquat que resulta na maior mortalidade de *S. bipunctata* é a mesma dose que causou a maior mortalidade quando utilizado o herbicida diquat. Da mesma forma, o herbicida que teve o maior efeito sobre a mortalidade não diferiu para as doses testadas.

O efeito significativo do Controle x Fatorial demonstrou que na média do fatorial, ou seja, a média de mortalidade de *S. bipunctata* quando submetidas à contaminação por qualquer um dos produtos em qualquer dose (40%), foi superior a mortalidade do tratamento controle (6,67%), sem a contaminação das abelhas (Tabela 2). Este resultado demonstra que a ingestão dos herbicidas paraquat e diquat promoveu maior mortalidade de *S. bipunctata*

Tabela 2 – Médias do percentual de mortalidade de *S. bipunctata* submetida à contaminação por ingestão de paraquat e diquat em diferentes doses e ao tratamento controle, sem contaminação.

Dose	Produto	
	Paraquat	Diquat
50	20 aA	20 aA
100	53.33 aB	66.67 aB
Controle	6.67*	

Médias seguidas de mesmas letras maiúscula nas colunas, ou minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste Tukey, a 5% de significância.

*Média do tratamento controle difere em relação à média do fatorial (p<0.01).

A ausência de significância para o efeito simples de Produto demonstra que os herbicidas paraquat e diquat apresentaram efeito similar sobre a mortalidade de *S. bipunctata* (Tabelas 1 e 2). Este resultado demonstra que os dois produtos apresentaram efeitos similares sobre a mortalidade de *S. bipunctata*, o que é justificado pela suas composições químicas, que possuem aproximada disposição molecular, como também, pelas formas análogas com que estes herbicidas agem nomeio ambiente (FREITAS; PINHEIRO, 2010; MARTINS, 2013).

O paraquat pertence ao grupo químico dos bupiridílio, relacionado com a formação de radicais superóxidos (O_2^-), resultando na formação de peróxido de hidrogênio, danificando membranas do cloroplasto e células (VIDAL, 1997). O diquat também pertence a este grupo agindo na degradação das membranas, em poucos dias causam necrose pela dessecação dos tecidos (MARCHI; MARCHI; GUIMARÃES, 2008). Estes herbicidas têm habilidade de funcionar como aceptores de elétrons no fotossistema I (OLIVEIRA JUNIOR; CONSTANTIN, 2001), esses elétrons são a fonte de energia para os processos biossintéticos celulares, quando os herbicidas paraquat e diquat estão presentes interagem com a ferredoxina, competindo com o NADP⁺ como aceptores de elétrons (MARCHI; MARCHI; GUIMARÃES, 2008).

Em geral os herbicidas e fungicidas possuem mecanismos de ação específicos, portanto, seus efeitos indiretos sobre insetos tendem a apresentar semelhança (EICH, 2015). Em decorrência desta especificidade, poucos trabalhos ainda são realizados estudando os efeitos dos herbicidas em abelhas. O fato de os herbicidas não aparentarem risco aos insetos, não os torna alvo de experimentos mais aprofundados, apenas são tratados os possíveis efeitos sub-letais, enquanto as vias e células afetadas não são exploradas à fundo (FREITAS; PINHEIRO, 2010).

Um estudo realizado em 1974, por Morton, et. al., observou a influência dos herbicidas em colônias de abelhas, a água contendo paraquat (1000 ppm) matou um grande número de abelhas imediatamente e o restante morreu até a quinta semana. Os efeitos do paraquat abordam a questão dos impactos de herbicidas de amônio quaternário, especialmente substâncias ativas de bupiridílio no desenvolvimento das abelhas (COUSIN et al., 2013). O herbicida diquat também desencadeia estresse oxidativo e pode se acumular no sistema nervoso de rãs, camundongos e também de abelhas (LINDQUIST; LARSSON; SOKOLOWSKI, 1988).

Em outras espécies o paraquat já foi estudado e demonstrou ser um potente indutor de estresse oxidativo. A exposição a este herbicida por 12 horas foi altamente letal para *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera, Drosophilidae), a qual é considerada um modelo experimental (KRŮČEK et al., 2014). A fim de caracterizar o potencial do NAPH como mecanismo de toxicidade, Bus e Gibson, 1984, mediram diretamente as concentrações de NAPH e NADP em pulmões de ratos tratados com paraquat e diquat, o tratamento com o bupiridilios produziu diminuições similares na relação NADPH / NADP no pulmão.

O efeito significativo de dose indica que as concentrações utilizadas apresentaram efeitos diferentes em relação à mortalidade das abelhas. As médias das doses de 50 e 100% da concentração de i.a. recomendada foram comparadas entre si por meio do teste Tukey a 5% de significância, onde se pode observar uma mortalidade superior na dose 100% em relação à dose 50%. Isto pode ser, dentre outros fatores, devido à presença de receptores de membrana e enzimas detoxificadoras que não vão sendo suficientes para reconhecer e degradar a quantidade de moléculas dos herbicidas na qual os insetos são oportunizados (MONQUERO; OLIVEIRA, 2018). Em decorrência, o acúmulo dessas substâncias vai afetando vias metabólicas, desencadeando efeitos comportamentais e pôr fim a letalidade (EL HASSANI et al., 2008).

Na média da dose total de ambos os produtos, a mortalidade foi de 60%, enquanto quando foi utilizada meia dose a mortalidade média dos produtos foi de 20% (Tabela 2). Este resultado confirma a hipótese de que a dose maior possui um maior impacto sobre as mortes de *S. bipunctata* por ingestão de paraquat e diquat. PEREIRA (2015) realizando um experimento similar com *S. bipunctata*, onde os indivíduos foram contaminados por ingestão com o inseticida natural azadiractina, observou que a concentração teve um efeito significativo na mortalidade das abelhas. Ao examinar os efeitos toxicológicos de pesticidas, TOMÉ et al., (2013) não observou mortalidade significativa nas abelhas das espécies *Partamona helleri* Friese, 1900, e *Scaptotrigona xanthotricha* Moure, 1950, independente da dose. Dessa maneira, a suscetibilidade aos pesticidas não é semelhante entre as abelhas, mesmo em diferentes doses, pois cada metabolismo tem um potencial de resposta de detoxicação (reação provocadas por enzimas detoxificadoras presentes no

sistema digestório que reduzem a absorção de compostos tóxicos) (DORNELES, 2015).

5.2 Experimento De Mortalidade Por Contato

Assim como realizado para o experimento de mortalidade de *S. bipunctata* por ingestão, para a mortalidade por contato também foi realizada uma análise exploratória dos dados. Para a dose 50% pôde-se perceber uma menor dispersão dos dados em relação a dose 100%, para ambos os produtos. (Figura 8). Além disso, similarmente ao ocorrido para o experimento por ingestão, não aparente haver diferenças importantes entre os herbicidas no efeito sobre a mortalidade das abelhas.

Além disso, comparando com a Figura 7, pôde-se perceber que para o experimento por contato, a magnitude de algum possível efeito da contaminação com os herbicidas e suas doses foi menor do que verificado na mortalidade por ingestão (Figura 8).

Comparando os herbicidas, a diferença verificada entre os produtos diquat e paraquat para as doses 50 e 100% foi de apenas 3.33 e -3.33%, respectivamente (Figura 8). Como também, a diferença da mortalidade entre as doses 50 e 100% para o produto diquat foi de apenas 6% e para o produto paraquat a mortalidade foi igual em ambas as doses (20%) (Figura 8). Ainda assim, para verificar a evidência estatística, foi realizada a análise de variância, pelo teste F a 5% de significância.

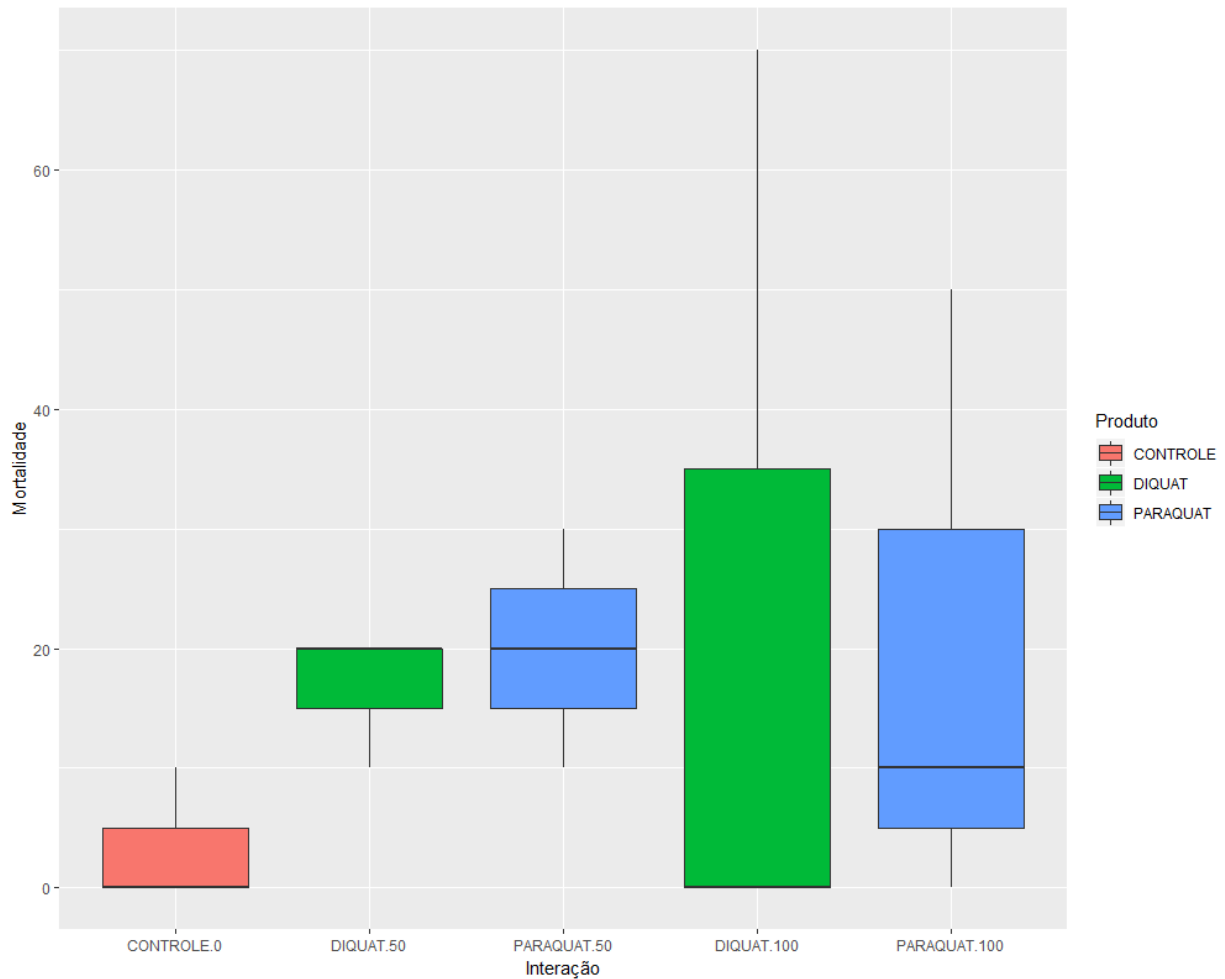


Figura 8 – Mortalidade (%) de *S. bipunctata* sob contaminação por contato com os herbicidas diquat (caixa verde) e paraquat (caixa azul) nas doses 50 e 100% da dose comercial e ao tratamento controle, sem inoculação (caixa vermelha).

A análise de variância da mortalidade de *S. bipunctata* por contato, confirmou que não houve efeito significativo para a interação Produto*Dose, bem como para todos os efeitos simples de bloco, produto e doses. Da mesma forma, não foi verificado efeito significativo para o efeito do fatorial em relação ao controle (Controle x Fatorial) (Tabela 3).

Tabela 3- Análise de variância da mortalidade de *S. bipunctata* quando submetida à contaminação por contato de paraquat e diquat em diferentes doses.

FV	GL	SQ	QM	F	P
Bloco	2	878.8	439.4	0.857	0.46
Produto	1	0.0833	0,0833	2,0E-04	0.9901
Dose	1	36.75	36.75	0.0717	0.7957
Produto*Dose	1	30.083	30.083	0.0587	0.8147
Controle x Fatorial	1	660.016	660.016	1.2173	0.2894
Resíduo	8	4101.867	512.733		
Total	14	5707.6			

CV = 14.76 %

FV: Fonte de variação, GL: Graus de liberdade, SQ: Soma de quadrados, QM: Quadrado médio, F: Valor da estatística F, p: p valor.

*p<0.05.

A menor mortalidade verificada para todos os tratamentos, bem como a grande dispersão dos dados em diquat e paraquat observados para o experimento de contato quando foi realizada a contaminação os herbicidas nas diferentes doses, ajudam a explicar a ausência de efeito significativo pela análise estatística. Na dose 50% apresentou variância menor do que na dose 100%. Essa maior variação pode ser uma razão pela qual não foi possível observar diferença estatística para a interação Produto x Dose. Dessa forma, mesmo que as médias de paraquat e diquat apresentem certa diferença, a grande variância entre as repetições do mesmo tratamento pode ter levado a ausência de significância para o teste estatístico.

Quando se considera a diferença entre o controle, sem contaminação, e os tratamentos com os produtos nas diferentes doses, apesar de os gráficos poderem sugerir alguma diferença, esta não foi suficiente para que a estatística permitisse declarar um efeito significativo (Tabela 3).

Tabela 4 – Médias do percentual de mortalidade de *S. bipunctata* submetida à contaminação por contato de paraquat e dDiquat em diferentes doses e ao tratamento controle, sem contaminação.

Dose	Produto	
	Paraquat	Diquat
50	20	16.67
100	20	23.33
Controle	6.67	

Nenhuma das médias difere estatisticamente a 5% de significância para os efeitos de produto ou dose.

Sendo assim, quando se considera este experimento pode-se dizer que não houve aumento significativo na mortalidade de *S. bipunctata* devido ao contato com paraquat ou diquat em todas as doses testadas, ou seja, a mortalidade nas condições de contaminação por contato foi igual à mortalidade de *S. bipunctata* no tratamento controle, sem a exposição a nenhum tipo de agente toxicológico.

As diferenças apresentadas entre contato e ingestão, como também, em comparação à literatura, a ausência de significância nas mortes por contato, podem ser associadas a diferenças nas características morfológicas, fisiológicas e específicas dos indivíduos (BRITAIN; POTTS, 2011; LABOISSIÈRE DEL SARTO, 2009), uma diferença expressiva relacionada à espécie e sua baixa mortalidade via contato, é a cutícula espessa e o peso corporal das abelhas, com isso, pode haver variações na taxa de penetração do produto pela cutícula (AHMAD; JOHANSEN, 1973; OLIVERIA et al., 2002). Outro fator a ser considerado é o peso corporal, o qual pode conferir forte influência na suscetibilidade das abelhas, tanto em contaminação oral, como tópica, sugere-se que abelhas com maior peso poderiam ser mais tolerantes que as espécies com menor peso. Há exemplo, uma operária de *S. bipunctata* pode chegar a pesar 19 mg, enquanto uma operária de *T. fiebrigi* pesa em média 5mg, conferindo maior tolerância da *S. bipunctata* aos pesticidas (DORNELES, 2015). É possível considerar que a suscetibilidade está diretamente relacionada com as relações de superfície e volume das espécies das abelhas (JOHANSEN, 1972).

Esta tolerância apresentada pode estar relacionada à diversidade morfológica das abelhas sem ferrão, em especial da *S. bipunctata*, a qual apresenta tamanho

corpóreo acima do tamanho que as demais abelhas nativas, bem como, apresenta diferenças na espessura e composição química da cutícula (BACCI et al., 2006). Nas abelhas sem ferrão a cutícula consiste em várias classes de compostos químicos, formando uma camada externa lipídica. Estes compostos são determinados geneticamente e podem variar entre as espécies (ABDALLA et al., 2003; DORNELES, 2015; LEONHARDT et al., 2015) podendo facilitar, ou não, a penetração dos pesticidas na cutícula, causando maior toxicidade de acordo com a espécie de abelha. Sendo assim, como a *S. bipunctata*, apresenta uma cutícula mais espessa em relação as espécies *Tetragonisca fibriegi* Schwarz, 1938, e *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (DORNELES, 2015) e espessura semelhante às espécies *Melipona marginata* Lepeletier, 1836, e *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836, esta pode servir como um tipo de barreira física para a penetração do agente tóxico (BLOCHTEIN et al., 2008).

A diferença de suscetibilidade, comparando a exposição a agroquímicos por ingestão e contato pode ser atribuída a inúmeros fatores. Diferentemente dos resultados reportados aqui, em *Apis mellifera* já foi relatada a maior susceptibilidade quando a exposição à neonicotinoides ocorreu via tópica. Os autores atribuem este fenômeno à capacidade de detoxicação dessas abelhas, já que a toxicidade de alguns produtos pode ser reduzida quando enzimas detoxificadoras presentes no sistema digestório das mesmas conseguem agir em relação à determinadas concentrações de agrotóxicos (DEL SARTO et al., 2014). Contudo, pesquisas com agrotóxicos, utilizando metodologia semelhante àquela aqui descrita, têm demonstrado que as abelhas sem ferrão são mais sensíveis por exposição oral, comparadas à exposição tópica e também quando comparadas à *Apis mellifera* (DORNELES, 2015).

Segundo Dorneles (2015), para as forrageiras de *S. bipunctata* não houve diferença significativa entre a ingestão e a exposição tópica para pesticidas, no entanto, em outra espécie de abelha sem ferrão, *T. fiebrigi* os produtos agroquímicos se mostraram mais tóxicos quando administrados oralmente. Esta diferença pode estar relacionada com o grau de toxicidade dos pesticidas e o modo de ação de cada um, atrelado ao modo que o metabolismo de cada indivíduo trabalha para realizar a defesa dos compostos tóxicos (CELLI; MACCAGNANI, 2017; STEVENSON, 1978). O próprio metabolismo celular pode gerar espécies reativas de

oxigênio, mas a taxa de produção aumenta muito se os tecidos forem expostos a fatores ambientais como o herbicida paraquat. O dano tecidual causado pelo aumento dos radicais livres e espécies reativas de oxigênio, os quais são instáveis e reagem rapidamente com ácidos graxos, provocam lesão nas membranas, proteínas, DNA e morte celular (MARTINS, 2013).

A análise das respostas à toxicidade por apresentarem significativa divergência, reforçam a importância de analisar as duas vias de exposição: oral e tópica, pois em locais onde as abelhas forrageiam, expostas à agrotóxicos, a absorção destes produtos pode ocorrer através da ingestão de pólen e néctar com resíduos de pesticidas, ou mesmo via o contato tópico (JOHNSON et al., 2010; MULLIN et al., 2010).

Quando os produtos químicos são aplicados, partículas em suspensão são mantidas no ar por um período de tempo e favorecem o contato com o corpo das abelhas (WOLFF; REIS; SANTOS, 2008), sendo carregadas ao ninho e possibilitando a contaminação do alimento. Os efeitos nocivos exercidos pelo uso intensivo dos herbicidas podem não estar relacionados diretamente à morte dos indivíduos, mas indiretamente acarretam em mudanças no hábitat e modificações químicas da colônia, conseqüentemente, resulta na morte destes polinizadores (BELDEN; LYDY, 2000).

É válido considerar, que a toxicidade dos agrotóxicos observadas em experimentos laboratoriais podem variar entre a realidade observada nos sistemas agrícolas (CELLI; MACCAGNANI, 2017), visto que há outros fatores, os quais podem ser determinantes, no entanto, não podem ser repetidos, pois variam de aplicação à aplicação e suas condições. A suscetibilidade em áreas agrícolas depende de outras condições, como os fatores abióticos, tempo de degradação dos agrotóxicos, correta aplicação segundo as recomendações do fabricante e comportamento das abelhas (GRADISH; SCOTT-DUPREE; CUTLER, 2012). Dessa forma, as diferenças observadas entre a suscetibilidade das abelhas nativas em relação aos herbicidas, doses testadas e em relação à outras espécies, inclusive *A. mellifera*, ratifica a importância de se realizar testes de toxicidade em diversas espécies de abelhas, bem como, incluir abelhas nativas em testes exigidos para a autorização de registro e uso de agrotóxicos, os quais são prioritariamente realizados em *A. mellifera*, porém, também afetam as abelhas nativas (ARENA;

SGOLASTRA, 2014; BRITAIN; POTTS, 2011; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

6 CONCLUSÃO

A mortalidade das abelhas da espécie *S. bipunctata* é afetada pela ingestão dos herbicidas paraquat e diquat. Contudo, estes herbicidas não diferem entre si para a mortalidade dos indivíduos. O incremento de 50% para 100% nas doses acarretou no aumento do número de abelhas mortas para ambos os herbicidas.

Considerando a contaminação por contato, as abelhas da espécie *S. bipunctata* não tiveram sua mortalidade afetada diante da exposição aos herbicidas paraquat e diquat em todas as concentrações testadas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

7.1 Recomendações para trabalhos futuros

- a. Realizar os experimentos com maior tamanho amostral, como também, maior tamanho de parcelas, o que contribuí para a confiabilidade dos dados e poder dos testes estatísticos.
- b. Para o experimento de exposição via contato, recomenda-se que a exposição seja feita indivíduo-indivíduo, a fim de que todos sejam contaminados na mesma proporção pelas mesmas doses.
- c. Há um grande estresse causado no momento da coleta e transporte, uma ambientação prévia à montagem do experimento poderia contribuir com um déficit de letalidade, ou até mesmo, favorecer que os fatores externos sejam isolados.
- d. Os períodos de tempo comumente utilizados para observação da mortandade dos indivíduos são 24, 48 e 72h, porém, é possível, e contribuiria com os resultados, que os bioensaios fossem mantidos por um período de tempo maior, visto que em alguns

casos, os efeitos dos herbicidas podem levar um intervalo de tempo maior para causar algum efeito no metabolismo ou sistemas dos indivíduos.

e. A fim de obter-se maiores dados comprobatórios e material para comparação, recomenda-se realizar investigações genéticas, a nível de expressão gênica, como também, avaliações citológicas, podendo analisar sinalizadores, receptores, vias metabólicas, divisões celulares, entre outros, passíveis de acusar alterações advindas das contaminações, sejam elas cutâneas ou através das mucosas.

8 REFERÊNCIAS

ABDALLA, F. C. et al. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 2, p. 191–199, 2003.

AGUILAR, R. et al. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: Review and synthesis through a meta-analysis. **Ecology Letters**, v. 9, n. 8, p. 968–980, 2006.

AHMAD, C.; JOHANSEN, C. Selective Toxicity of Carbophenothion and Trichlorfon to the Honey Bee. **Environmental Entomology**, v. 2, n. 1, p. 27–30, 1973.

ALONSO, W. J. . **Abelhas sem ferrão: centenas de espécies para polinização, produção de mel, lazer e educação**. [s.l.: s.n.].

ANTONIO, W. P. A. **Implantação de Meliponário em Área Rural do Município de Pirassununga/SP, Visando Agregar Renda aos Moradores e Preservar a Fauna e Flora Local**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2012.

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

ASCOM/ANVISA. **Iniciado controle eletrônico do agrotóxico Paraquate**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/controle-do-agrotoxico-paraquate-comeca-nesta-quinta/219201/pop_up?inheritRedirect=false&redirect=http%3A%2F%2Fportal.anvisa.gov.br%2Fnoticias%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU>. Acesso em: 1 nov. 2018.

BACCI, L. et al. Seletividade Fisiológica de Inseticidas a Vespas Predadoras (Hymenoptera: Vespidae) de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **BioAssay**, v. 1, n. 10, p. 1–7, 2006.

BARBOSA, D. B. et al. As abelhas e seu serviço ecossistêmico de polinização. **Rev. Elet. Cient. UERGS**, v. 4, n. 4, p. 694–703, 2017.

BELARMINO, L. C. Avaliação econômica de inseticidas biológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 371–389, abr. 1992.

BELDEN, J. B.; LYDY, M. J. Impact of atrazine on organophosphate toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. September 2000, p. 2266–2274, 2000.

BLOCHTEIN, B. et al. **Manual de Boas Práticas Para a Criação e Manejo Racional de Abelhas Sem Ferrão no RS**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008.

- BRASIL. **Decreto-Lei nº 4.074, de 4 de Janeiro**. Brasil, 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/legislacao/arquivos-de-legislacao/decreto-4074-2002-decreto-dos-agrotoxicos>>
- BRITAIN, C.; POTTS, S. G. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. **Basic and Applied Ecology**, v. 12, n. 4, p. 321–331, 2011.
- BUS, J. S.; GIBSON, J. E. Paraquat: Model for oxidant-initiated toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. VOL. 55, p. 37–46, 1984.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. **Meliponini Lepeletier, 1836**, In: **Moure J. S, Urban D., Melo G. A. R. (Orgs.)**.
- CAMARGO, J. M. F.; POSSEY, D. A. O conhecimento dos Kayapó sobre as abelhas sociais sem ferrão (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera). **Ciências da Terra e Ecologia**, v. 6, n. 1, p. 17–42, 1990.
- CAMARGO, R. C. R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R. Produção do Mel. **Embrapa Meio Norte - Sistemas de Produção**, v. 3, p. 138, 2002.
- CARVALHO, F. P. Agriculture, pesticides, food security and food safety. **Environmental Science and Policy**, v. 9, n. 7–8, p. 685–692, 2006.
- CATAE, A. F. **Alterações no Cérebro e no Ventrículo de Abelhas Apis mellifera Expostas ao Imidacloprido**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2016.
- CELLI, G.; MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. v. 56, n. August, p. 137–139, 2017.
- CHUTTONG, B. et al. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). **Food Chemistry**, v. 192, p. 149–155, 2016.
- COSTANZA, R. et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Nature**, v. 3387, n. 1, p. 253–260, 1997.
- COUSIN, M. et al. Size Changes in Honey Bee Larvae Oenocytes Induced by Exposure to Paraquat at Very Low Concentrations. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, 2013.
- DE OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos Herbicidas no Ambiente. In: **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. [s.l: s.n.]. p. 263–304.
- DEL SARTO, M. C. L. et al. Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 45, n. 5, p. 626–636, 2014.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 81–106, 2007.

DORNELES, A. L. **Toxicidade de Inseticidas Organofosforados para as Abelhas sem Ferrão *Scaptotrigona bipunctata* e *Tetragonisca fiebrigi***. [s.l.] Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2015.

DOS SANTOS, C. F.; OTESBELGUE, A.; BLOCHTEIN, B. The dilemma of agricultural pollination in Brazil: Beekeeping growth and insecticide use. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, p. 1–13, 2018.

EICH, A. P. P. **Histórico de Uso e Ação de Agroquímicos Sobre Abelhas da Espécie *Apis mellifera***. [s.l.] Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, 2015.

EL HASSANI, A. K. et al. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, n. 4, p. 653–661, 2008.

FAIRBROTHER, A. et al. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 719–731, 2014.

FERMINO, F. et al. Isoenzymes and cytochemical analysis in *Tetragonisca angustula* and *Tetragonisca fiebrigi* after herbicide contamination. **Sociobiology**, v. 55, n. 2, p. 353–366, 2011.

FRAZIER, M. et al. What Have Pesticides Got to Do with It? **Am Bee J**, n. 2, p. 521–523, 2008.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. Efeitos Sub-Letais Dos Pesticidas Agrícolas E Seus Impactos No Manejo De Polinizadores Dos Agroecossistemas Brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 01, p. 282–298, 2010.

GISI, U.; SIEROTZKI, H. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. **The Downy Mildews - Genetics, Molecular Biology and Control**, n. April, p. 157–167, 2008.

GOMES, V. V et al. Evaluation of the quality of honey commercialized in Western Pará, Brazil [Avaliação da qualidade do mel comercializado no Oeste do Pará, Brasil]. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 815–826, 2017.

GOTTEMS, L. **Diquat pode substituir Paraquat no Brasil**. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/noticias/diquat-pode-substituir-paraquat-no-brasil_411105.html>. Acesso em: 1 nov. 2018.

GOULSON, D. et al. Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, 2015.

GRADISH, A. E.; SCOTT-DUPREE, C. D.; CUTLER, G. C. Susceptibility of *Megachile rotundata* to insecticides used in wild blueberry production in Atlantic Canada. **Journal of Pest Science**, v. 85, n. 1, p. 133–140, 2012.

HALINSKI, R.; DORNELES, A. L.; BLOCHTEIN, B. Bee assemblage in habitats associated with *Brassica napus* L. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 3, p. 222–228, 2015.

HONORE, P. et al. Paraquat poisoning. **International Journal of Clinical and Laboratory Medicine**, v. 1, n. May, p. 220–228, 1994.

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)>

JOHANSEN, C. A. Toxicity of Field-Weathered Insecticide Residues to Four Kinds of Bees 1, 2. **Environmental Entomology**, v. 1, n. 3, p. 393–394, 1972.

JOHNSON, R. M. et al. Pesticides and honey bee toxicity – USA. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 312–331, 2010.

JUNGNICKEL, H. et al. Chemical basis for inter-colonial aggression in the stingless bee *Scaptotrigona bipunctata* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 50, n. 8, p. 761–766, 2004.

KAMRIN, M. A. **Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate**. 1st. ed. Florida: Lewis Publishers, 1997.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo E Conservação**. 2. ed. [s.l.] Eliber liber, 1996.

KLEIN, A. M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303–313, 2007.

KRŮČEK, T. et al. Effect of Low Doses of Herbicide Paraquat on Antioxidant Defense in *Drosophila*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 0, n. 0, p. 1–14, 2014.

LABOISSIÉRÈ DEL SARTO, M. C. **Toxicidade de inseticidas para as abelhas *Melipona quadrifasciata* e *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae)**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa - UFV, 2009.

LEONHARDT, S. D. et al. Potential role of environmentally derived cuticular compounds in stingless bees. **Chemoecology**, v. 25, n. 4, p. 159–167, 2015.

LIMA, M. A. P. et al. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. **Journal of Comparative Physiology A:**

Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology, v. 202, n. 9–10, p. 733–747, 2016.

LINDQUIST, N. G.; LARSSON, B. S.; SOKOLOWSKI, A. Autoradiography of [14C]paraquat or [14C]diquat in frogs and mice: Accumulation in neuromelanin. **Neuroscience Letters**, v. 93, n. 1, p. 1–6, 1988.

LITCHFIELD, M. H.; DANIEL, J. W.; LONGSHAW, S. The Tissue Distribution of the Bipyridylum Diquat and Paraquat in Rats and Mice. v. 1, p. 155–165, 1973.

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

LOURENÇO, C. T. **Determinação da Toxicidade Topica e Oral do Inseticida Fipronil e Efeitos de Suas Doses Subletais no Comportamento de Abelhas Sem Ferrao *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811)**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR, 2012.

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.

MALASPINA, O. et al. **Efeitos Provocados por Agrotóxicos em Abelhas no Brasil**. Encontro Sobre Abelhas. **Anais...Ribeirão Preto**, SP: 2008

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. **Herbicidas: Mecanismos de Ação e Uso** Planaltina Embrapa Cerrados, , 2008.

MARQUES ET AL. **Polinizadores na Agricultura: ênfase em abelhas**. 1. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175, 2013.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. [s.l: s.n.]. v. 85

MINEAU, P. et al. Using reports of bee mortality in the field to calibrate laboratory-derived pesticide risk indices. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 2, p. 546–554, 2008.

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.

MORAES, S. S.; BAUTISTA, A. R. L.; VIANA, B. F. Avaliação da toxicidade aguda (DL50 e CL50) de inseticidas para *Scaptotrigona tubiba* (Smith) (Hymenoptera: Apidae): via de contato. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 31–37, 2000.

- MOREIRA, D. R. et al. Toxicity and effects of the neonicotinoid thiamethoxam on *Scaptotrigona bipunctata* lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v. 33, n. 4, p. 463–475, 2018.
- MORTON, H. L.; MOFFETT, J. O.; MARTIN, R. D. Influence of Water Treated Artificially With Herbicides on Honey Bee Colonies. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 5, p. 808–812, 1974.
- MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical region**. Curitiba, Brasil.: [s.n.].
- MULLIN, C. A. et al. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3, 2010.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão**. [s.l.: s.n.]. v. 34
- OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas Daninhas e Seu Manejo**. Guaíba, RS: [s.n.].
- OLIVERIA, E. E. et al. Seletividade de Inseticidas a *Theocolax elegans* Parasitóide de *Sitophilus zeamais*. **Biosci J.**, v. 18, n. 2, p. 11–16, 2002.
- PEREIRA, A. M. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2010.
- PEREIRA, E. M. **Toxicidade, Análise Genética e Identificação de Uma Nova Esterase Após Contaminação de Abelhas *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae) com Concentrações subletais do Inseticida Natural *Azadiractina***. [s.l.] Universidade Estadual de Maringá - UEM, 2018.
- PHAM-DELÈGUE, M.-H. et al. Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. **Apidologie**, v. 33, n. 6, 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.
- PIRES, C. S. S. et al. Weakness and collapse of bee colonies in Brazil: Are there cases of CCD? **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422–442, 2016.
- PUBLIC EYE. **O Brasil proíbe o paraquat; o lobby prepara-se**. Disponível em: <<https://www.brasildefato.com.br/2017/10/30/artigo-or-o-brasil-proibe-o-paraquat-o-lobby-prepara-se/>>. Acesso em: 1 nov. 2018.
- QUEZADA-EUÁN, J. J. G.; MAY-ITZÁ, W. DE J.; GONZÁLEZ-ACERETO, J. A. Meliponiculture in Mexico: Problems and perspective for development. **Bee World**, v. 82, n. 4, p. 160–167, 2001.

REIGART, J. R.; ROBERTS, J. R. **Recognition and Management of Pesticide Poisonings**. 6. ed. Washington: EPA, 2013.

RICKETTS, T. H. et al. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? **Ecology Letters**, v. 11, n. 5, p. 499–515, 2008.

ROUBIK, D. W.; ROUBIK, D. W.; VERLAG, S. Stingless bee nesting biology To cite this version : v. 37, n. 2, p. 124–143, 2006.

RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C. et al. Biomonitoring the Environmental Quality by Bees. **Biomonitoring the Environmental Quality by Bees**, n. Herbicides, Physiology of Action, and Safety, p. 1–19, 2015.

SANCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Pesticide residues and bees - A risk assessment. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

SANTOS, A. et al. Aspectos gerais da intoxicação por paraquat em animais domésticos. **Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária**, v. 5, p. 43–55, 2012.

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

SINGH, S.; SAINI, K.; JAIN, K. L. Quantitative comparison of lipids in some pollens and their phagostimulatory effects in honey bees. **Journal of Apicultural Research**, v. 38, n. 1–2, p. 87–92, 1999.

SOARES, H. M. **Avaliação dos Efeitos do Inseticida Imidacloprido Para Abelhas Sem Ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2012.

SOMMER, P. G. **Aspectos da apicultura brasileira**. Simpósio Paranaense de Apicultura. **Anais...**Guarapuava: Federação Paranaense de Apicultura, 1997

SOUZA, M. T. DE. **Identificação Molecular de Abelhas Sem Ferrão da Amazônia**. [s.l.] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2010.

STEVENSON, J. H. The Acute Toxicity of Unformolated Pesticides to Worker Honey Bees (*Apis mellifera* L.). **Plant Pathology**, v. 27, n. 1, p. 38–40, 1978.

THOMPSON, H. M. Behavioural Effects of Pesticides in Bees—Their Potential for Use in Risk Assessment. **Ecotoxicology**, v. 12, n. 1/4, p. 317–330, 2003.

THOMPSON, H. M.; 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.

TIA-LYNN, A. et al. Pollen limitation of plant reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. **Ecology**, v. 85, n. 9, p. 2408–2421, 2004.

TOMÉ, H. V. V et al. Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. **Crop Protection**, v. 46, p. 63–69, 2013.

VALDOVINOS-NÚÑEZ, G. R. et al. Comparative Toxicity of Pesticides to Stingless Bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 5, p. 1737–1742, 2009.

VENTURIERI, G.; ALVES, D.; VILLAS-BÔAS, J. Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização agrícola. **Polinizadores no Brasil: Contribuição e Perspectivas para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais**, n. February 2018, p. 488, 2012.

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre Palotti, , 1997.

WHITEHORN, P. R. . et al. Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. **Scienceexpress**, n. 1, p. 4, 2012.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. **Espécies de abelhas sem ferrão de ocorrência no Rio Grande do Sul**. 1. ed. Porto Alegre: Versátil Artes Gráficas, 2009.

WITTER, S.; NUNES-SILVA, P. Manual De Boas Práticas Para O Manejo E Conservação De Abelhas Nativas (Meliponíneos). p. 141, 2014.

WOLFF, L. F. B. **Efeitos dos agrotóxicos sobre a apicultura e a polinização de soja, citrus e macieira**. (Confederação Brasileira de Apicultura, Ed.) Congresso Brasileiro de Apicultura XIII. **Anais...** Florianópolis, SC - Brasil: 2000

WOLFF, L. F.; REIS, V. D. A. DOS;; SANTOS, R. S. S. DOS; **Abelhas Melíferas: Bioindicadores de Qualidade Ambiental e de Sustentabilidade da Agricultura Familiar de Base Ecológica** Pelotas Embrapa, , 2008.