

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAIZA ABATI

Apis mellifera AFRICANIZADAS E FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS:
SEGURANÇA DOS AGENTES DE CONTROLE A OPERÁRIAS E RAINHAS

CURITIBA

2025

RAIZA ABATI

Apis mellifera AFRICANIZADAS E FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS:
SEGURANÇA DOS AGENTES DE CONTROLE A OPERÁRIAS E RAINHAS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Entomologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Coorientadora: Prof^a. Dra. Michele Potrich

CURITIBA

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Abati, Raiza.

Apis mellifera africanizadas e fungos entomopatogênicos: segurança dos agentes de controle a operárias e rainhas. / Raiza Abati. – Curitiba, 2025.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia).

Orientador: Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez.

Coorientadora: Prof.^a Dra. Michele Potrich.

1. Abelhas africanizadas. 2. Abelha-europeia. 3. Inseticidas. 4. Fungos entomopatogênicos. I. Sosa-Gomez, Daniel Ricardo. II. Potrich, Michele. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia). IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ENTOMOLOGIA) - 40001016005P5

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ENTOMOLOGIA) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **RAIZA ABATI**, intitulada: ***Apis mellifera* africanizadas e fungos entomopatogênicos: segurança dos agentes de controle a operárias e rainhas**, sob orientação do Prof. Dr. DANIEL RICARDO SOSA GÓMEZ, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Maio de 2025.

Assinatura Eletrônica

11/06/2025 12:05:50.0

DANIEL RICARDO SOSA GÓMEZ

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/06/2025 10:47:14.0

SILVIA HELENA SOFIA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

Assinatura Eletrônica

28/05/2025 15:42:57.0

DORA SOFIA MARTINS HENRIQUES

Avaliador Externo (INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA)

Assinatura Eletrônica

28/05/2025 16:32:35.0

FABIANA MARTINS COSTA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS DOIS VIZINHOS)

Departamento de Zoologia - Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-980 - Tel: (41) 3361-1763 - E-mail: pgento@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 455263

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 455263

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, pela sabedoria concedida e pela força para superar cada desafio ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais, pelo exemplo de integridade e dedicação, pela educação que me proporcionaram e por estarem ao meu lado em todos os momentos, sempre confiando, acreditando em mim e me incentivando com palavras e gestos de apoio.

Aos meus irmãos, pelo companheirismo constante, em especial à minha irmã Roberta, por sua presença incondicional, apoio, incentivo e força, que foram fundamentais em tantas etapas desta trajetória.

Às minhas sobrinhas Julia F. Abati, Maria Clara Abati e Mariana F. Abati e ao meu sobrinho Pedro Abati de Souza por serem um ponto de paz e alegria em todos os momentos da vida.

Ao meu orientador, professor Dr. Daniel R. Sosa-Gómez, pela orientação, disponibilidade, apoio técnico e pelas contribuições valiosas ao longo desta pesquisa.

À minha coorientadora, professora Michele Potrich, por todos os ensinamentos que tornaram possível a construção deste trabalho. Agradeço pelo exemplo inspirador como profissional e ser humano, pela confiança depositada em mim, pela paciência, incentivo e, sobretudo, pela amizade cultivada ao longo do processo.

À professora Fabiana M. Costa, pelo conhecimento compartilhado e por disponibilizar o apiário experimental para a realização dos experimentos. Ao professor Edgar de Souza Vismara por todo conhecimento repassado e auxílio nas análises do projeto.

A todos os docentes que fizeram parte da minha jornada até aqui, os quais contribuíram para minha formação pessoal.

Aos meus amigos Fernanda C. Colombo e Rodrigo Maciel Antunes, por todo o aprendizado proporcionado desde os primeiros passos no laboratório. Sou grata pela amizade, apoio constante, conselhos sinceros, paciência e pelos momentos de leveza e riso que tornaram os dias mais agradáveis.

Às minhas amigas Fernanda Raulino, Bruna Escher e Dieli P. de Souza, pelo companheirismo dentro e fora do laboratório, pela amizade sincera, pela ajuda generosa e pelos inúmeros momentos de alegria e descontração compartilhados.

Às amigas de longa data Ana Júlia Lorenzett Block, Eloísa Potulski, Aline Potulski, Silvia Rubert, Maisa Rockenbach e Andressa Andriolli que, mesmo com a distância e o passar dos anos, continuam presentes na minha vida, me apoiando e incentivando.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos e da UNEPE-Apicultura, por toda a colaboração e auxílio durante a execução dos experimentos.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, pelo suporte institucional e pela infraestrutura disponibilizada, essenciais para a concretização deste trabalho.

À Universidade Federal do Paraná, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e às pessoas que fazem parte desse programa, essenciais para a realização deste projeto.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo fomento à pesquisa por meio da concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu mais sincero agradecimento.

Muito obrigada!

RESUMO

Apis mellifera Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) desempenha papel essencial e econômica nos ecossistemas por sua função polinizadora na produção de subprodutos. Contudo, o declínio populacional dessa espécie, associado a múltiplos fatores como uso indiscriminado de agrotóxicos e presença de patógenos, tem motivado a busca por alternativas sustentáveis, entre elas o controle biológico de insetos praga. No Brasil, o controle biológico realizado com fungos entomopatogênicos têm sido frequentemente empregados na agricultura. Entretanto, são escassas as informações sobre os possíveis efeitos do uso de tais agentes sobre a abelha melífera africanizada. Neste sentido, esta pesquisa avaliou a segurança dos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 1912, *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok., 1883, and *Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shrestha & Spatafora, 2017 sobre operárias e rainhas de *A. mellifera* africanizada. Foram realizados bioensaios de pulverização direta e alimentação em operárias, além de avaliação do deslocamento vertical (teste de voo e queda livre). Em rainhas, larvas foram alimentadas com geleia real contendo os fungos e, após emergência, foram analisados parâmetros morfométricos. Os resultados indicaram que os três fungos testados reduziram a sobrevivência das operárias no ensaio de pulverização direta, quando comparadas ao controle negativo (água destilada esterilizada), enquanto no bioensaio de alimentação, apenas *C. fumosorosea* interferiu negativamente. No entanto, em ambos os bioensaios, o controle positivo (CL₅₀ a 48 horas de imidacloprido) causou letalidade acentuada quando comparada aos demais tratamentos. No teste de deslocamento vertical, operárias expostas através da pulverização a *M. anisopliae* e a *C. fumosorosea*, apresentaram alterações no deslocamento vertical, sugerindo que estes causam alterações comportamentais. Na produção de rainhas, foi observada redução na aceitação e emergência no tratamento utilizando *M. anisopliae*. Enquanto nas avaliações morfométricas, para todos os tratamentos avaliados, não houve alteração no peso, comprimento total, comprimento do abdome, comprimento e largura da asa. Porém, foi observado que o fungo *B. bassiana* reduziu a largura do abdome e o comprimento e largura do tórax, quando comparado ao grupo controle e aos demais tratamentos. De forma geral, os dados demonstram que os fungos entomopatogênicos podem afetar a sobrevivência e o comportamento de operárias, especialmente através do contato direto. Assim como, podem interferir na produção e produtividade de ovos de rainhas com consequências negativas para a colônia. Isso ressalta a importância de estudos de seletividade e de avaliação de riscos antes da adoção desses agentes como ferramentas no manejo integrado de pragas, especialmente quando se considera a convivência com insetos polinizadores. O uso seguro e responsável de bioinseticidas requer compreender suas interações com organismos não-alvo, como as abelhas, para garantir sustentabilidade ecológica e produtiva.

Palavras-chave: Abelhas melíferas; bioinseticidas; entomopatógenos; seletividade; efeitos subletais.

ABSTRACT

Apis mellifera Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) plays an essential and economic role in ecosystems due to its pollination function in the production of by-products. However, the population decline of this species, associated with multiple factors such as the indiscriminate use of pesticides and the presence of pathogens, has driven the search for sustainable alternatives, among them the biological control of insect pests. In Brazil, biological control with entomopathogenic fungi has been frequently employed in agriculture. Nevertheless, information regarding the possible effects of using such agents on Africanized honey bees is scarce. In this context, this study evaluated the safety of the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., 1912, *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok., 1883, and *Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shrestha & Spatafora, 2017 on Africanized *A. mellifera* workers and queens. Bioassays of direct spray and feeding were conducted on workers, in addition to the evaluation of vertical displacement (flight and free-fall test). For queens, larvae were fed royal jelly containing the fungi and, after emergence, morphometric parameters were analyzed. The results indicated that all three fungi tested reduced the survival of workers in the direct spray assay when compared to the negative control (sterile distilled water), whereas in the feeding bioassay only *C. fumosorosea* had a negative effect. However, in both bioassays, the positive control (imidacloprid, 48 h LC₅₀) caused markedly higher lethality compared to the other treatments. In the vertical displacement test, workers exposed by spraying with *M. anisopliae* and *C. fumosorosea* showed alterations in vertical movement, suggesting behavioral changes. In queen production, a reduction in acceptance and emergence was observed in the treatment with *M. anisopliae*. In the morphometric evaluations, no changes were observed in weight, total length, abdomen length, or wing length and width for any treatment. However, *B. bassiana* reduced abdomen width as well as thorax length and width when compared to the control group and the other treatments. Overall, the data demonstrate that entomopathogenic fungi can affect worker survival and behavior, especially through direct contact. They can also interfere with queen egg production and productivity, with negative consequences for the colony. This highlights the importance of selectivity and risk assessment studies before adopting these agents as tools in integrated pest management, particularly when considering their coexistence with pollinating insects. The safe and responsible use of biopesticides requires an understanding of their interactions with non-target organisms, such as bees, to ensure ecological and productive sustainability.

Keywords: Honey bees; bioinsecticides; entomopathogens; selectivity; sublethal effects.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 ABELHAS E SUA IMPORTÂNCIA ECOSSISTÊMICA.....	14
3.2 CARACTERIZAÇÃO DE <i>Apis mellifera</i> L. 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE)	15
3.3 DECLÍNIO DAS ABELHAS.....	17
3.4 PATÓGENOS E <i>APIS MELLIFERA</i>	18
3.5 EFEITO DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS EM <i>Apis mellifera</i>	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 TRATAMENTOS	31
4.2 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM OPERÁRIAS DE <i>Apis mellifera</i>	31
4.2.1 Pulverização direta dos tratamentos sobre operárias de <i>Apis mellifera</i>	31
4.2.2 Exposição aguda aos tratamentos através da alimentação de operárias de <i>Apis mellifera</i>	33
4.2.3 Avaliação comportamental: Deslocamento vertical	33
4.3 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM RAINHAS DE <i>Apis mellifera</i>	35
4.3.1 Avaliações morfométricas	36
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
4.4.1 Análise de Sobrevivência de Operárias.....	37
4.4.2 Análise de voo e queda	39
4.4.3 Análise de morfometria de rainhas.....	40
5 RESULTADOS.....	41
5.1 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM OPERÁRIAS DE <i>Apis mellifera</i>	41
5.1.1 Sobrevivência de operárias expostas a <i>Metarhizium anisopliae</i>	41
5.1.2 Deslocamento vertical de operárias expostas a <i>Metarhizium anisopliae</i>	47
5.1.3 Sobrevivência de operárias expostas a <i>Beauveria bassiana</i>	51
5.1.4 Deslocamento vertical de operárias expostas a <i>Beauveria bassiana</i>	55
5.1.5 Sobrevivência de operárias expostas a <i>Cordyceps fumosorosea</i>	58
5.1.6 Deslocamento vertical de operárias expostas a <i>Cordyceps fumosorosea</i>	61

5.2 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM RAINHAS DE <i>Apis mellifera</i>	65
6 DISCUSSÃO	68
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

As abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) são insetos sociais que possuem importância econômica devido a produção de mel, própolis, geleia real, apitoxina, os quais são utilizados em indústrias alimentícias e farmacêuticas (BAVA et al., 2025; BROWN; WRIGHT, 2016; VIUDA-MARTOS et al., 2008). Além disso, tem papel significativo nos ecossistemas como bioindicadores ambientais (BARGAŃSKA; ŚLEBIODA; NAMIEŚNIK, 2015; CATALANO et al., 2024; CELLI; MACCAGNANI, 2003; QUIGLEY; AMDAM; HARWOOD, 2019). Seu destaque também ocorre por ser um dos principais agentes polinizadores das angiospermas, garantindo a manutenção, a variabilidade genética e o incremento produtivo tanto em ecossistemas naturais quanto artificiais (AIZEN; HARDER, 2009; HUNG et al., 2018; WINFREE; GROSS; KREMEN, 2011). Isso ocorre, em razão do hábito generalista de forrageamento das abelhas operárias desta espécie (HUNG et al., 2018), além da necessidade de visitar várias flores durante o dia em busca de pólen, néctar, resina e água, a fim de garantir o suprimento das necessidades individuais e da colônia.

No entanto, durante a atividade de forrageamento, as operárias podem entrar em contato com contaminantes ocasionando sua mortalidade. Abelhas mortas contendo vestígios de agrotóxicos têm sido observadas com frequência, especialmente no Brasil (GRIGORI, 2019; KNISS et al., 2025; MAP, 2017; SALOMÃO, 2023). Além disso, quando expostas a doses subletais de agrotóxicos podem comprometer sua fisiologia e comportamento, ocasionando enfraquecimento das colônias a longo prazo (ABATI et al., 2021, 2023; BATTISTI et al., 2021, 2024; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007a; PALOSCHI et al., 2023).

Desde o ano de 2006, com o acentuado declínio de colônias sem uma causa específica, houve um aumento no número de pesquisas com o objetivo de investigar os possíveis motivos deste efeito (ABATI et al., 2021). Este fenômeno ficou conhecido como Desordem do Colapso das Colônias (DCC), no qual ocorre o desaparecimento repentino de abelhas operárias adultas, as quais abandonam a rainha e as crias, não sendo observada a invasão de pragas e no qual não há a presença de abelhas adultas mortas dentro ou nas proximidades da colônia, ocasionando assim, o enfraquecimento ou morte da colônia (KULHANEK et al.,

2017; PIRK et al., 2014; STEINHAUER et al., 2018; VANENGELSDORP et al., 2009; VANENGELSDORP; MEIXNER, 2010).

As investigações científicas apontam para a probabilidade deste fenômeno estar relacionado a um ou mais fatores e da possível interrelação entre eles. A presença de patógenos na colônia, aliado a um ou mais estressores, como por exemplo produtos tóxicos à espécie; monoculturas, que causam estresse nutricional; desmatamento; mudanças climáticas; diminuição de fluxo gênico; reduzida variabilidade genética da rainha; manejo incorreto das colônias e o uso incorreto de agrotóxicos, levam ao enfraquecimento da colônia, e muitas vezes, ao colapso de colônias (COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010; KINOSHITA et al., 2006; NRCS, 2008; POTTS et al., 2015; SÁNCHEZ-BAYO et al., 2016; STEINHAUER et al., 2018).

Além das perdas de polinizadores, a utilização de inseticidas químicos sintéticos em excesso e de maneira incorreta, podem trazer danos aos ecossistemas através da ressurgência de pragas e a resistência genética de alguns insetos, além da contaminação da água, solo, lençóis freáticos e alimentos ((HUBBARD; MURILLO, 2024; LI et al., 2024; PINTO et al., 2020; SINGH et al., 2017; SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012; XIA et al., 2024). Em razão destes e outros fatores, pesquisas utilizando agentes de controle biológico têm aumentado. Ademais, também há tendência no aumento da utilização destes na agricultura, já que a Europa e a América do Norte têm exigido níveis cada vez mais baixos de resíduos de agrotóxicos nos alimentos e, na China, existem políticas públicas para redução na utilização de produtos químicos na agricultura (VAN LENTEREN et al., 2018).

Como redução na utilização de produtos químicos, tem-se ampliado o uso de agentes de controle biológico. O controle biológico é a ocorrência de um organismo vivo controlando seu inimigo natural, podendo este ser entomófago ou entomopatogênico (LACEY et al., 2015). Dentre os entomopatógenos, estão os fungos, bactérias, vírus e nematoides. Alguns destes já possuem registro comercial e são amplamente utilizados em cultivos orgânicos (AGROFIT, 2025). Os fungos entomopatogênicos se destacam devido ao seu modo de ação por contato, o que permite o controle de insetos em diferentes fases do ciclo de vida, incluindo os sugadores, além de favorecer sua disseminação entre as populações de insetos.

Como agentes de controle biológico, os fungos com destaque pertencem à ordem Hypocreales e às famílias Cordycipitaceae e Clavicipitaceae, com ênfase nos gêneros *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium*, que já possuem registro e são comercializados para aplicações em cultivos agrícolas e florestais (AGROFIT, 2025). Além disso, esses fungos têm potencial para o controle de *Varroa destructor* Anderson e Trueman, 2000 (Parasitiformes: Varroidae) em colônias de *A. mellifera*, especialmente em países da Europa (FERNANDEZ FERRARI et al., 2020; HAMIDUZZAMAN et al., 2012; KANGA et al., 2010; MEIKLE et al., 2009). Embora sejam mais seguros ao ambiente, são necessários estudos sobre a seletividade, alterações comportamentais e bioquímicas ocasionadas por esses agentes em operárias e rainhas de abelhas *A. mellifera*. Isto ocorre devido ao comportamento e estar estritamente relacionado ao desenvolvimento da colônia e a uma complexa relação entre rainha e operárias e, por isso, devem estar em bom funcionamento para que a colônia se mantenha em equilíbrio. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a segurança de fungos entomopatogênicos sobre operárias e rainhas de *A. mellifera* africanizada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a segurança de fungos entomopatogênicos na sobrevivência e comportamento de operárias, bem como na produção de rainhas de *A. mellifera* africanizada.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a ação dos agentes *Beauveria bassiana* IBCB 66, *Metarhizium anisopliae* IBCB 425, e *Cordyceps fumosorosea* ESALQ 4778 na longevidade e deslocamento vertical de abelhas operárias adultas;
- Analisar o efeito desses agentes na produção de rainhas;
- Verificar a ação dos agentes na morfometria de rainhas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ABELHAS E SUA IMPORTÂNCIA ECOSSISTÊMICA

As abelhas são polinizadores essenciais e desempenham um papel crucial na polinização de muitas plantas, incluindo culturas agrícolas (KLEIN et al., 2007), tendo em vista sua capacidade de visitar variadas flores, em busca de pólen, néctar e resina, a fim de suprir suas necessidades e da colônia (CALDERONE, 2012; CALVETE et al., 2010; CHIARI et al., 2008; RUCKER; THURMAN, 2012). Mesmo em espécies agrícolas que possuem flores autóгамas, nas quais não haveria a necessidade de polinizadores, pode-se observar o incremento produtivo com a presença dos insetos, com destaque as abelhas. A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.), quando polinizada por abelhas, apresenta aumento de até 37% na produtividade de grãos em relação a soja não polinizada (CHIARI et al., 2008). Em estudo realizado na cultura da canola (*Brassica napus* L.), também foi observado aumento na produção de sementes e melhoria na produtividade de plantas desta espécie quando polinizadas por abelhas (ROSA; BLOCHTEIN; LIMA, 2011).

A polinização é essencial para o equilíbrio e regulação dos ecossistemas naturais e artificiais uma vez que esta garante a produção de frutos e grãos, além de proporcionar a propagação, manutenção e variabilidade genética das plantas (CALDERONE, 2012; GIANNINI et al., 2015; IPBES, 2016; POTTS et al., 2010). A polinização consiste, de maneira resumida, na transferência do pólen da estrutura masculina, denominada antera, para a estrutura feminina das flores, chamada estigma, propiciando, assim, a fecundação e viabilizando a reprodução das angiospermas. Por ser estático, o pólen necessita de agentes que realizem seu transporte, podendo esse ocorrer por meio do vento, da água, de vertebrados e de alguns insetos (SIHAG, 2018).

Em geral, o serviço de polinização contribui em 35% do volume de produção de alimentos, sendo que este representa entre 5% a 8% do valor da produção mundial (IPBES, 2016). Além disso, a falta de agentes polinizadores interfere negativamente na produção, na padronização do aspecto, sabor, tamanho e formato de grãos e frutos e além disso pode ser fator limitante do rendimento e do lucro do produtor (COBRA et al., 2015; FREITAS; SILVA, 2015; OLIVEIRA; NICODEMO; OLIVEIRA, 2015).

Dentre as espécies de abelhas, destaca-se *A. mellifera*, pois apresenta: a) ampla distribuição geográfica, sendo encontrada em diversos países do mundo, b) facilidade de manejo, quando comparada a outras espécies, c) capacidade de nidificar em caixas, d) possuir hábito de forrageamento generalista, visitando variadas espécies de plantas (HUNG et al., 2018; LECLERCQ; GENGLER; FRANCIS, 2018). Assim, esta espécie de abelha também é explorada pelos apicultores devido à diversidade de produtos que podem ser obtidos, tais como mel, própolis, apitoxina, cera e geleia real, conferindo renda aos produtores (VIUDA-MARTOS et al., 2008).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DE *Apis mellifera* L. 1758 (HYMENOPTERA: APIDAE)

Apis mellifera é uma espécie de abelha pertencente à classe Insecta, ordem Hymenoptera, superfamília Apoidea, família Apidae e subfamília Apinae. No Brasil, a ocorrência é do polihíbrido africanizada, sendo esta resultante do cruzamento das subespécies europeia com a subespécie africana (COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010). Uma vez que as abelhas de subespécies europeias, presentes no Brasil até então, apresentavam susceptibilidade a doenças e pragas, que comprometiam sua produtividade, a subespécie africana foi trazida ao Brasil para estudos em relação a resistência e tolerância a doenças. No entanto, o enxameamento não proposital proporcionou o cruzamento destas, resultando em abelhas mais produtivas, mais resistentes a pragas e doenças, porém mais defensivas Ramos; Carvalho (2007). Em razão da alta produção de mel e rusticidade, *A. mellifera* africanizada é a espécie exótica de maior ocorrência no Brasil, sendo amplamente criada pelos apicultores (COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010).

A apicultura tem apresentado crescimento nacional. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2022 foram registrados 101.797 estabelecimentos apícolas e 2.158.914 colmeias no Brasil. Este fato possibilitou um recorde na produção nacional, chegando a aproximadamente 61 mil toneladas de mel, o que corresponde ao valor de R\$ 957.811,00 (IBGE, 2023). A região nordeste se destacou como maior produtora, neste último ano, no entanto, os estados que lideram o ranking são Rio Grande do Sul, Paraná e Piauí representando 14,79%, 14,17% e 13,75% da produção nacional, respectivamente. Além da

produção de mel, os demais subprodutos como própolis, geleia real e apitoxina também são comercializados, os quais são utilizados em indústrias farmacêuticas e alimentícias, proporcionando incremento econômico aos apicultores (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012).

As abelhas desta espécie são eussociais, ou seja, dividem o trabalho reprodutivo e não reprodutivo, cooperam no cuidado da prole, além da ocorrência da sobreposição de gerações. Em razão disso, se organizam em castas femininas, sendo rainhas e operárias. As operárias possuem o órgão reprodutor atrofiado, e, no local do ovipositor, há a presença de ferrão utilizado para a defesa. Além destas, há a presença de machos, denominados de zangões. Cada indivíduo da colônia possui funções distintas e complementares, e por isso, é necessária a presença de todos para o equilíbrio da colônia. As colônias são formadas por uma rainha, a qual é responsável por manter o funcionamento harmônico da colônia e impedir a formação de novas rainhas, através da liberação de feromônio, além disso, realiza a oviposição nos alvéolos após o voo nupcial. O número de zangões na colônia varia entre zero e 400. Eles são responsáveis pela fecundação da abelha rainha e aquecimento da colônia, morrendo após a cópula durante o voo nupcial. Por fim, o número de operárias pode variar de duas mil a 80 mil, sendo estas as responsáveis pela execução de tarefas na colônia (COUTO; COUTO, 2006; GALLO et al., 2002; TAUTZ, 2010).

As tarefas desempenhadas pelas abelhas operárias são distribuídas conforme a idade e o desenvolvimento glandular, no entanto, conforme a necessidade da colônia pode haver a sobreposição nas atividades. De maneira geral, a limpeza dos alvéolos e de abelhas recém-nascidas é realizada por operárias durante o primeiro até o quinto dia de vida; do quinto ao décimo dia, as operárias são responsáveis pela nutrição de larvas em desenvolvimento, além disso, durante este período também passam por acentuado desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas e mandibulares, as quais estão relacionadas com a produção de geleia real; a partir do 11º ao 20º dia, sua função é receber e desidratar o néctar que as forrageiras trazem para a colônia, elaborando assim o mel. Neste período, também produzem cera para construção de favos, devido ao desenvolvimento das glândulas ceríferas; durante o 18º até o 21º dia atuam na defesa da colônia e no controle da temperatura interna; por fim, a partir do 22º dia até a morte realizam a

coleta de néctar, pólen, resina e água para o suprimento da colônia (COUTO; COUTO, 2006).

Durante a atividade de coleta, denominada forrageamento, as abelhas entram contato com uma ampla diversidade de flores. Neste processo pode ocorrer o contato com diversos agentes contaminantes, que por vezes não causam a morte imediata da abelha, mas são transportados consigo podendo causar o enfraquecimento e até mesmo a morte da colônia a médio e longo prazo (AMARO; GODINHO, 2012; CHIARI et al., 2008; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007b; WATSON; STALLINS, 2016).

3.3 DECLÍNIO DAS ABELHAS

Os primeiros relatos de mortalidade de abelhas ocorreram entre as décadas de 40 e 60, época na qual, houve intensificação das produções agrícolas e, conseqüentemente, aumento dos monocultivos, da utilização de agrotóxicos e a perda de habitat. No entanto, apenas a partir de 2006, com a acentuada redução no número de colônias de abelhas sem causa aparente, relatadas por apicultores dos Estados Unidos da América, é que houve aumento nas investigações sobre as possíveis causas deste declínio (ABATI et al., 2021; KAPLAN, 2012).

Este fenômeno foi denominado como Desordem do Colapso das Colônias (DCC), e é definido pelo desaparecimento repentino de abelhas operárias adultas, as quais abandonam a rainha e as crias, não sendo observada a invasão de pragas e sem a presença de abelhas adultas mortas dentro ou nas proximidades da colônia, ocasionando assim, o enfraquecimento ou morte da colônia (KULHANEK et al., 2017; VANENGELSDORP et al., 2009; VANENGELSDORP; MEIXNER, 2010). Nos anos seguintes relatos de perdas de colônias com as mesmas características da DCC foram realizados em países da Europa e demais continentes, sendo que no Brasil os primeiros registros de suspeita de DCC ocorreram no ano de 2010 (PIRES et al., 2016). No entanto, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não existem evidências científicas de que este fenômeno ocorra no Brasil (A.B.E.L.H.A, 2020).

As investigações científicas apontam para a probabilidade deste fenômeno estar relacionado a um ou mais fatores e da possível inter-relação entre esses. A presença de patógenos na colônia, aliado a um ou mais estressores, como por

exemplo monoculturas, que causam estresse nutricional; desmatamento; mudanças climáticas; diminuição de fluxo gênico; reduzida variabilidade genética da rainha; manejo incorreto das colônias e o uso incorreto de agrotóxicos, levam ao enfraquecimento da colônia, e muitas vezes, ao colapso de colônias (BAPTISTA et al., 2009; COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010; GOULSON et al., 2015; KAPLAN, 2012; KINOSHITA et al., 2006; NRCS, 2008; POTTS, 2015).

Além da desordem do colapso das colônias, a mortalidade de abelhas também tem sido verificada de forma acentuada, especialmente no Brasil. Diferentemente da DCC as abelhas têm sido encontradas mortas contendo traços de agrotóxicos, e também a presença destes no mel ou na cera (ABATI et al., 2023; CALATAYUD-VERNICH et al., 2018; MULLIN et al., 2010; PALOSCHI et al., 2023; POHORECKA et al., 2017). Neste ano, foram relatados a morte de mais de 100 milhões de abelhas no estado do Mato Grosso, devido a uma única aplicação área de fipronil, no entanto, não é um fato isolado, pois vem ocorrendo nos últimos anos nos estados da Bahia, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (GRIGORI, 2019; MAP, 2017; SALOMÃO, 2023)

Além de causar a mortalidade, quando em doses subletais podem ocasionar danos no comportamento e na fisiologia das abelhas (ABATI et al., 2021; BATTISTI et al., 2021; CATAE et al., 2018; CHARRETON et al., 2015; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007b; TOSI; NIEH, 2017). Além disso, podem atuar sinergicamente com patógenos ocasionando a mortalidade do indivíduo ou até mesmo da colônia, os quais isoladamente não teriam tal impacto (BALBUENA et al., 2023; DOUBLET et al., 2015; GOULSON et al., 2015; GRASSL et al., 2018; O'NEAL; ANDERSON; WU-SMART, 2018; PETTIS et al., 2012; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014).

3.4 PATÓGENOS E *Apis mellifera*

Por serem eussociais, as abelhas da espécie *A. mellifera* possuem alto risco de contaminação por patógenos. Isso ocorre em virtude do estreito parentesco genético e também por conviverem em grande número de indivíduos na colônia, favorecendo a transmissão de patógenos e a ocorrência de epizootias (EVANS et al., 2006; GENERSCH, 2010)

Diversos são os patógenos que podem acometer as colônias de *A. mellifera*, dentre eles, destacam-se os microsporídios *Nosema ceranea* Fries et al., 1996 e *Nosema apis* Zander, 1909 que infectam o intestino das abelhas e podem causar danos tanto individuais quanto em nível de colônia (EVANS; SCHWARZ, 2011; PAŞCA et al., 2019). A infecção ocorre através da ingestão de esporos, sejam eles, presentes no alimento ou pelo habito de auto-limpeza (*grooming*), e podem ser transmitidos para as demais por trofalaxia (GALAJDA et al., 2021).

Os esporos de *Nosema* spp. possuem morfologia ovoide e são de diferentes tamanhos, sendo que *N. apis* possui tamanho ligeiramente menor quando comparado a *N. ceranea*, porém sua diferenciação só é visualizada em microscópio (FRIES, 2010). Estes esporos são inseridos na célula hospedeira através de um túbulo polar formado após o contato inicial do esporo com a célula. Assim, esse túbulo atua como um duto para transferência de esporoplasma, para o desenvolvimento do pré-esporo. A fissão ocasionada induz a produção de um aglomerado de pré-esporos, com camada fina que permanece em contato com o citoplasma da célula hospedeira. A célula infectada torna-se compactada com parasitas, ocasionando o rompimento e a passagem dos esporos para o lúmen intestinal. Quando maduros, estes esporos podem continuar no intestino médio e acarretar a infecção de outras células, ou então, podem ser liberados diretamente através das fezes, tornando-se inóculo para as demais abelhas (GALAJDA et al., 2021; GOBLIRSCH, 2018; PAŞCA et al., 2019).

Estes microsporídios causam como sintoma principal a diarreia, uma vez que utilizam os nutrientes presentes na microbiota intestinal. Além disso, causam lesões no intestino e nos túbulos de Malpighi, assim, ocasionam problemas digestivos os quais podem reduzir a imunidade nas abelhas. Com isso, ocasiona maior susceptibilidade a outros patógenos, além de comprometer a atividade de forrageamento e produção de ferômonios, bem como, ocasionar a redução no tempo de vida das abelhas operárias (GRUPE; QUANDT, 2020; PARIS et al., 2018). Embora estudos com produtos alternativos para o controle desta doença existam, o mais utilizado por apicultores é fumagilina (WILLIAMS et al., 2008).

Além dos microsporídios, outras doenças podem causar prejuízo às abelhas. A cria giz ou ascoferiose é ocasionada pelo fungo esporocisto *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive & Spiltoir (SPILTOIR, 1955). A infecção ocasionada por este fungo ocorre em abelhas durante a fase larval, após ser ingerido, é ativado

pelo aumento de CO₂ no lúmen do intestino, quando a colônia apresenta baixa temperatura e alta umidade (ARONSTEIN; MURRAY, 2010).

Com o início da infecção, as larvas deixam de se alimentar e ficam inchadas, o micélio por sua vez, cresce levando a morte da larva. Estas larvas mortas, diminuem de tamanho, mumificam, e apresentam coloração cinza ou preta, devido a formação de esporos em sua cutícula (ARONSTEIN; MURRAY, 2010; JENSEN et al., 2013). Após isso, ocorre a transmissão destes esporos dentro da colônia por cera ou abelhas contaminadas, ou então entre colônias por manejo inadequado ou coleta de pólen contendo os esporos (VOJVODIC et al., 2012).

Além dos sintomas nas larvas mortas, pode ser observado também falhas nos favos e perfuração dos opérculos (JENSEN et al., 2013). Para controlar esta doença, as abelhas desenvolveram mecanismo comportamental, que ao identificar a presença do fungo, as operárias realizam o aumento da temperatura, que desfavorece o progresso da doença (STARKS; BLACKIE; SEELEY, 2000).

Além deste fungo, durante a fase de larval e de pupa, outros patógenos também podem ocasionar perdas nas colônias, como as bactérias *Paenibacillus larvae* White, 1906, causadora da doença conhecida como cria pútrida americana (DJUKIC et al., 2014), e também *Melissococcus plutonius* Bailey & Collins, 1982 agente causal da doença cria pútrida europeia (FORSGREN, 2010). *Paenibacillus larvae* é uma bactéria Gram-positiva, flagelada e formadora de esporos. Assim como as demais doenças descritas anteriormente, a infecção das abelhas ocorre através da ingestão desta bactéria, sendo que os esporos germinam no intestino médio, proliferando-se, inicialmente, sem ocasionar danos ao epitélio. Após a infecção, ocorre o extravasamento para a hemocela, uma vez que estas bactérias rompem a membrana quitino proteica do lúmen e o epitélio intestinal. Concomitantemente ao rompimento do epitélio, há a morte larval (DJUKIC et al., 2014; FÜNFHAUS; EBELING; GENERSCH, 2018). O período de maior susceptibilidade das larvas para *P. larvae* ocorre até as 36 horas de idade, após esse tempo é necessário grande número de esporos para ocasionar a infecção (GENERSCH; ASHIRALIEVA; FRIES, 2005). Os sintomas apresentados pelas larvas mortas são, inicialmente, a consistência viscosa e a coloração marrom, após isto, secam e grudam aos alvéolos, ocasionando aspecto de escamas e a língua pupal fica aparente, além disso, são verificados também, falhas e perfurações dos favos (DE GRAAF et al., 2006).

Melissococcus plutonius é também uma bactéria Gram-positiva, mas diferentemente de *P. larvae* não produz esporos (FÜNFHAUS; EBELING; GENERSCH, 2018). A infecção também ocorre por ingestão, sendo que ao atingir o intestino médio, multiplica-se causando danos às células epiteliais e à matriz peritrófica. Esta bactéria ocorre em conjunto com bactérias secundárias como *Enterococcus faecalis*, *Achromobacter euridice*, *Paenibacillus alvei* e *Brevibacillus laterosporus* (FORSGREN, 2010). A caracterização de larvas infectadas por *M. pluton* é pelo fechamento irregular da ninhada, irregularidade das células, transparência das larvas jovens, as quais ficam sobre a parte inferior do alvéolo, com traqueia exposta; quando mais velhas, ficam flácidas e encontram-se torcidas nas paredes do alvéolo. Além disso, é possível observar mudanças de cor das larvas mortas, as quais ficam amarelas, depois marrom e quando decompostas preto acinzentado (FORSGREN et al., 2013). As larvas de até 48 horas apresentam maior susceptibilidade a esta bactéria (FÜNFHAUS; EBELING; GENERSCH, 2018). Ambas as doenças bacterianas descritas ocasionam a redução na viabilidade da colônia, o que acarreta menor produção de mel e, conseqüentemente, perda econômica aos apicultores.

Além destas, a presença do ácaro ectoparasita *V. destructor* é considerada a maior causa de perdas nas colônias de *A. mellifera*, uma vez que seu parasitismo em pupas e adultos reduz o volume de hemolinfa e, principalmente, por ser vetor de vírus causadores de doenças nestas abelhas (CHEN; EVANS; FELDLAUER, 2006; MCMENAMIN; GENERSCH, 2015; NAZZI; LE CONTE, 2016). A transmissão de doenças por este ácaro pode ser descrita em três fases definidas como 1) aquisição 2) mobilidade e 3) transmissão. Na primeira fase, *V. destructor* se alimenta dos tecidos das abelhas, ingerindo patógenos destes tecidos, na segunda, move-se entre diferentes hospedeiros individuais e na terceira fase, durante a alimentação, o ácaro introduz o patógeno novamente no hospedeiro (TRAYNOR et al., 2020).

Dentre os vírus associados ao ácaro *V. destructor*, e que causam doenças graves em abelhas, se destacam: Vírus da Paralisia Aguda (Acute bee paralysis virus - ABPV), Vírus da Realeira Negra (Black queen cell virus - BQCV), Vírus Deformador da Asa (Deformed wing virus - DWV), Vírus caxemira (Kashmir bee virus - KBV) e Vírus Israelense da Paralisia Aguda (Israeli acute paralysis virus - IAPV) (BACANDRITSOS; ROINIOTI; PAPANASTASIOU, 2012). Alguns destes, já estavam presentes nas colônias, porém, tornaram-se virulentos e capazes de colapsar

colônias após o estabelecimento do ácaro *V. destructor* em colônias (KEVAN et al., 2006; MCMENAMIN; GENERSCH, 2015).

O ABPV pertence ao gênero *Triatovirus*, família *Dicistroviridae*, cujo genoma é composto por RNA poliadenilado, com fita simples de 9,5 kb e sentido positivo (MIRANDA et al., 2013). Este vírus causa a mortalidade de adultos, que quando infectados, apresentam sintomas de paralisia, tremores, incapacidade de voar, escurecimento do tegumento e perda de cerdas do tórax e abdômen, apresentando cor cintilante (AZZAMI et al., 2012). ABPV se acumula no sistema nervoso, citoplasma de células do corpo adiposo, cérebro e glândulas hipofaríngeas (BEAUREPAIRE et al., 2020).

O BQCV também pertencente ao gênero *Triatovirus*, família *Dicistroviridae*, sendo este um vírus sem envelope, o qual possui genoma de RNA de única fita de 9,5 kb, e sentido linear positivo (MIRANDA et al., 2013; SPURNY et al., 2017). Este vírus acomete larvas de rainhas, as quais apresentam como sintomas coloração amarelada, tegumento duro e áspero, porém a morte pode ocorrer no período pupal (LEAT et al., 2000). A transmissão deste vírus ocorre, principalmente através de alimentação de fezes, uma vez que o vírus é encontrado no intestino das abelhas (CHAGAS et al., 2020).

O DWV pertence ao gênero *Iflavirus* e a família *Iflaviridae* possui RNA de cadeia positiva de 10 kb (MIRANDA et al., 2013). Este vírus afeta principalmente as abelhas operárias, mas pode ser encontrado em todas as castas. Os sintomas são caracterizados em abelhas recém emergidas por asas amassadas ou ausência de asas, inchaço e redução e no tamanho do abdômen, descoloração (DE MIRANDA; GENERSCH, 2010). Além disso, ocasiona redução da longevidade e interfere negativamente na atividade de forrageamento e na aprendizagem e memória (MARTIN; BRETTELL, 2019). DWV pode ser encontrado nos ovários e corpo gorduroso de rainhas, espermateca e vesículas seminais do zangão, assim como, na hemolinfa, intestino, asas, cabeça, tórax, pernas de todas as castas (MARTIN; BRETTELL, 2019; YUE et al., 2007). Por isso, além de ser transmitido pelo ácaro, pode ser transmitido via fecal-oral e via sexual.

O IAPV e KBV pertencem ao mesmo gênero e família que ABPV e BQCV, e com isso suas características genômicas são semelhantes. Os sintomas também são parecidos, como tremores nas asas e no corpo, perda da capacidade de voo e perda de pelos no tórax e abdômen (DE MIRANDA; CORDONI; BUDGE, 2010).

Estes vírus podem causar a infecção e serem letais às abelhas infectadas. Tanto IAPV como KBV podem estar presentes no cérebro, glândulas hipofaríngeas e nas fezes, o que permite a transmissão do vírus também ocorra via oral-fecal (BEAUREPAIRE et al., 2020).

Além dos vírus associados ao ácaro varroa, outros considerados graves são Vírus da Paralisia Crônica (Chronic bee paralysis virus - CBPV), Vírus da Cria Ensacada (Sacbrood virus - SBV) (BACANDRITSOS; ROINIOTI; PAPANASTASIOU, 2012). O CBPV ainda não possui classificação, porém é um vírus de RNA bipartido. Os sintomas são tremor das asas e do corpo, abdômen inchado, rastejamento, incapacidade de voar, aglomeração de infectadas nas áreas mais quentes da colônia, perda cerdas do abdômen e tórax, escurecimento de tegumento e tom brilhante (BEAUREPAIRE et al., 2020). Assim, é capaz de interferir negativamente na atividade de forrageamento e produção de mel, bem como, em altos níveis de infestação, ocasiona o colapso da colônia (BAILEY; GIBBS; WOODS, 1968). Este vírus pode estar presente nos tecidos do sistema nervoso e digestivo, e também glândulas mandibulares e hipofaríngeas das abelhas, podendo ser transmitido via oral-fecal e também por contato (AMIRI et al., 2014).

Já o SBV pertence à família *Iflaviridae*, com genoma de 9 kb (MIRANDA et al., 2013). Os sintomas são larvas inchadas com líquido da ecdise contendo partículas virais. Este vírus acarreta em falha na empupação, indução de forrageamento precoce, diminuição da longevidade e do metabolismo de abelhas adultas (BLANCHARD et al., 2014). São encontrados nas glândulas hipofaríngeas de abelhas operárias adultas, músculo e células da extremidade traqueal de larvas e sua via de transmissão é apenas oral-fecal (MIRANDA et al., 2013).

Como os vírus descritos aqui, por comprometerem a saúde de abelhas, possuem como material genético o RNA, seu modo de ação de maneira geral ocorre após a ligação e penetração destes vírus nas células hospedeiras, onde se replicam inoculando o RNA dentro do citoplasma. Em seguida, os ribossomos farão a transcrição e produzirão novas proteínas virais, as quais serão unidas como partícula viral e com isso, serão liberadas da célula infectada para iniciar infecção em outras células.

Desta forma, as infecções ocasionadas por vírus podem interferir na morfologia, fisiologia e comportamento de *A. mellifera*, podendo ocasionar letalidade de abelhas e até mesmo o colapso da colônia (BEAUREPAIRE et al., 2020). O

controle dos vírus transmitidos por *V. destructor* são feitos exclusivamente pelo controle do vetor, e pode ser controle químico, natural ou biológico e também com estratégias de manejo (HABER; STEINHAUER; VANENGELSDORP, 2019).

As informações sobre doenças em *A. mellifera* africanizada ainda são escassas no Brasil. Estudos recentes demonstram, que embora *V. destructor* tenha sido relatado em 1977, com níveis de infestação variáveis ao longo dos anos, até o ano de 2020 não ocasionaram impacto negativo na apicultura nacional (CASTILHOS et al., 2023). No entanto, dentre outros casos, já foram observados sintomas de vírus em colônias no Brasil, com destaque para IAPV e ABPV, sendo verificado também a sobreposição destes vírus (PEIXOTO et al., 2021). *Nosema ceranea* e BQPV também foram verificadas em colônias dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo que das 92 colônias avaliadas, 23 apresentaram casos de coinfeção (CHAGAS et al., 2020). O clima tropical e subtropical do país, aliado ao baixo estresse nutricional, a genética adquirida pela abelha africanizada em razão do cruzamento das duas subespécies de abelhas, dentre outros fatores, podem ser fatores que favorecem os baixos níveis de infestação de *V. destructor* e consequentemente, das doenças ocasionadas por este (CASTILHOS et al., 2023). Porém, ainda faltam dados concisos sobre esse tema. Além das doenças que acometem as colônias de abelha, os agentes entomopatogênicos, como fungos utilizados para o controle de insetos-pragas nos cultivos agrícolas, bem como para o controle de varroa, podem ocasionar danos à saúde das abelhas.

3.5 EFEITO DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS EM *Apis mellifera*

As pesquisas e a tendência de utilização de agentes de controle biológico são crescentes em todo o mundo, uma vez que o uso excessivo e incorreto de agrotóxicos, especialmente inseticidas químicos sintéticos, podem ocasionar danos aos ecossistemas. Dentre esses danos, destaca-se a ressurgência de pragas e a resistência genética de alguns insetos, contaminação da água, solo, lençóis freáticos, alimentos e seres humanos, bem como a perda de polinizadores ((ABATI et al., 2021; HUBBARD; MURILLO, 2024; LI et al., 2024; PINTO et al., 2020; SINGH et al., 2017; SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012; XIA et al., 2024). Além disso, países da Europa e da América do Norte têm exigido níveis cada vez mais baixos de resíduos

de agrotóxicos nos alimentos, e na China existem políticas públicas para redução na utilização de agrotóxicos na agricultura (VAN LENTEREN et al., 2018)

O controle biológico é a ocorrência de um organismo vivo controlando outro ser vivo, podendo este ser entomófago ou entomopatogênico (LACEY et al., 2015). Dentre os entomopatogênicos estão os fungos, bactérias, vírus e nematoides. Destacam-se os fungos entomopatogênicos, tendo em vista que seu modo de ação ocorre por contato, possibilitando assim, o controle de insetos em diferentes estágios de vida, inclusive de sugadores, bem como a facilidade de disseminação entre populações de insetos.

Os fungos utilizados como agentes de controle biológico, são pertencentes à ordem Hypocreales, famílias Cordicipitaceae e Clavicipitaceae, ressaltando-se os gêneros *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium*, os quais já possuem registro e são comercializados para cultivos agrícolas e florestais (AGROFIT, 2025), e também têm sido testados para o controle de *V. destructor* em colônias de *A. mellifera*, especialmente em países europeus (FERNANDEZ FERRARI et al., 2020; HAMIDUZZAMAN et al., 2012; KANGA et al., 2010; MEIKLE et al., 2009).

O modo de ação destes três gêneros de fungos ocorre de maneira semelhante. Após o contato do conídio com a cutícula do inseto, ocorre a germinação do conídio e as hifas penetram no corpo do inseto através de força mecânica, juntamente com as enzimas proteases, lipases e quitinases. Com o rompimento da cutícula do inseto, há o contato com a hemocel e com isso inicia-se a proliferação dos blastósporos e o crescimento destas estruturas. Este crescimento implica na característica infectiva, uma vez que o sistema imunológico do inseto não a reconhece, e não havendo interferência dos hemócitos, possibilita o crescimento acelerado. Com a colonização do corpo do inseto, ocorre também a liberação de micotoxinas capazes de ocasionar mudanças comportamentais e fisiológicas, e consequentemente, a morte do inseto. Após a morte, o inseto torna-se um reservatório do fungo entomopatogênico, os quais apresentam esporulação externa através dos orifícios do inseto, quando em condições ambientais favoráveis e com isso, ocorre a disseminação para o ambiente, possibilitando assim, a infecção de outros insetos (ALVES, 1998a; POTRICH et al., 2022; SOSA-GÓMEZ; ALESSANDRO, 2019; WANG; WANG, 2017).

Alguns isolados destes fungos podem ser utilizados, para o controle de *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae) (mosca branca),

Cosmopolites sordidus Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae) (moleque da bananeira), *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott, 1923 (Hemiptera: Cicadellidae) (cigarrinha do milho), *Deois flavopicta* Stall, 1954 (Homoptera: Cercopidae) (cigarrinha das pastagens), *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908, (Hemiptera: Liviidea) (psílideo), *Euschistus heros* Fabricius, 1798 (Hemiptera: Pentatomidae), (percevejo-marrom), *Mahanarva fimbriolata* Stal, 1854 (Hemiptera: Cercopidae) (cigarrinha da raiz), *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) (gorgulho da cana), dentre os insetos-praga (AGROFIT, 2025), além do controle de *V. destructor* (FERNANDEZ FERRARI et al., 2020; HAMIDUZZAMAN et al., 2012; KANGA et al., 2010; MEIKLE et al., 2009). Embora conheça-se a ação destes sobre os insetos de maneira geral, poucos são os estudos avaliando a segurança destes sobre as abelhas.

Quando avaliada ação de *B. bassiana* IBCB 66 ($1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹) e *M. anisopliae* IBCB 425 ($1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹) na produção de rainhas, através da alimentação de larvas com geleia real contendo os respectivos fungos, não foi verificado efeito negativo dos fungos entomopatogênicos no tempo de emergência, peso a emergência, comprimento total, comprimento e largura do abdômen, comprimento e largura da asa, comprimento, largura e altura do tórax (COLOMBO et al., 2020). Resultado semelhante foi verificado por Potrich et al. (2020), padrões morfométricos essenciais na produção de rainha, após incorporar *B. bassiana* em tecido tipo gaze acondicionado no interior de minirrecrias, para contato de operárias, as quais, posteriormente, tiveram contato com larvas de rainhas. Segundo a mesma autora, *B. bassiana* apenas reduziu o tempo de emergência das rainhas, bem como aumentou seu peso, sendo que os demais parâmetros não foram alterados. Além disso, foi verificado que as colônias expostas aos fungos não apresentaram redução na área de cria, assim como as rainhas virgens produzidas não apresentaram alteração no mesêntero e as operárias amas não tiveram alterações nas glândulas hipofaringeanas (POTRICH et al., 2020).

Alguns estudos com ensaios laboratoriais, simulam as possíveis forma de exposição de operárias de *A. mellifera* a produtos comerciais formulados com fungos entomopatogênicos. Dentre as formas de exposição estão: pulverização direta dos produtos sobre operárias; contato em superfície vítrea e/ou em folhas contendo os produtos; e alimentação com incorporação dos produtos. Quando operárias recém emergidas foram expostas aos produtos comerciais formulados com *B. bassiana*

PL63 ($1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹) e *M. anisopliae* E9 ($1,0 \times 10^9$ conídios.mL⁻¹), pode-se observar que ambos os estomopatógenos reduziram a sobrevivência das abelhas quando expostas aos bioensaios de pulverização direta e de contato em superfície vítrea, comparados ao grupo controle (POTRICH et al., 2018). Segundo os mesmos autores, quando expostas ao contato com folhas de soja e na alimentação, apenas *B. bassiana* ocasionou redução na longevidade das operárias. Além disso, não foram verificadas alterações no mesêntero das operárias alimentadas com os produtos.

Em estudo semelhante, utilizando *B. bassiana* IBCB 66 ($1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹) e *M. anisopliae* IBCB 425 ($1,0 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹), foi verificado que estes isolados reduziram a longevidade das operárias recém emergidas, quando expostas aos bioensaios de pulverização direta e incorporados na alimentação (COLOMBO et al., 2020). Ademais, *M. anisopliae* reduziu a sobrevivência das abelhas expostas ao contato com folhas de eucalipto contendo o entomopatógeno.

Ao avaliar *B. bassiana* PL63 (1×10^8 conídios.mL⁻¹), *M. anisopliae* E9 ($1,39 \times 10^8$ conídios.mL⁻¹) e *C. fumosorosea* 1296 ($2,5 \times 10^9$ conídios.mL⁻¹) foi verificado, que quando incorporado a dieta *B. bassiana* e *M. anisopliae* ocasionaram redução na longevidade das operárias, de maneira mais acentuada, quando comparado as expostas a *C. fumosorosea* e ao grupo controle. No entanto, quando avaliada a ação no bioensaio de pulverização direta *C. fumosorosea* e *M. anisopliae* reduziram a sobrevivência das operárias, comparando aos demais tratamentos, enquanto no bioensaio de contato em superfície, *B. bassiana* e *C. fumosorosea* ocasionaram diminuição na sobrevivência das operárias (LIBARDONI et al., 2023). Os mesmos autores verificaram que em laboratório, *B. bassiana* e *C. fumosorosea* permanecem com efeito residual durante seis dias em superfície contaminada, ocasionando a redução na sobrevivência das operárias. Além disso, ao realizarem análise comportamental de caminhamento em placa, verificaram que nas condições avaliadas, as operárias expostas a *B. bassiana* e *C. fumosorosea* apresentaram menor velocidade média de caminhada, quando comparado ao controle e quando em contato com *B. bassiana* e *M. anisopliae* percorreram menores distâncias. Nas métricas avaliando tempo de descanso e tempo de caminhada não houve diferença entre os tratamentos e o grupo controle, assim como, não foram observadas alterações em bioensaios de deslocamento em direção a luz e de queda livre, análises estas relacionada ao comportamento de voo.

Operárias expostas a *B. bassiana* ATCC 74040, isolado do produto comercial Naturallis, por aplicação tópica apresentaram redução acentuada na sobrevivência após o sexto dia de exposição ao fungo, no entanto, não foi verificado aumento no consumo alimentar nas abelhas expostas ao fungo, quando comparado ao grupo controle (CARLESSO et al., 2020). No entanto, os autores verificaram que abelhas expostas a *B. bassiana*, tiveram alteração na capacidade de resposta à sacarose e redução na aprendizagem, quando submetidas ao protocolo de resposta de extensão da probóscide.

Por outro lado, quando colônias de abelhas foram expostas a diferentes concentrações e diferentes isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* para o controle do ácaro varroa, não foi verificado impacto significativo sobre abelhas e no desenvolvimento da colônia de maneira geral, podendo ser considerados bons aliados no controle deste ácaro (FERNANDEZ FERRARI et al., 2020; HAMIDUZZAMAN et al., 2012; KANGA et al., 2010).

Além disso, alguns estudos demonstram que abelhas jovens são mais susceptíveis a esses fungos entomopatogênicos, do que abelhas adultas (ALVES et al., 1996; BULL et al., 2012; ESPINOSA-ORTIZ et al., 2011). Isto em razão da ativação de genes relacionados a imunidade de *A. mellifera* em fase jovem (BULL et al., 2012). No entanto, os efeitos patológicos de fungos entomopatogênicos utilizados para o controle de pragas agrícolas, ainda são inconclusivos em *A. mellifera* dada a escassez de trabalhos sobre o tema.

Ademais, os testes realizados em laboratório com agentes de controle biológico em abelhas, são majoritariamente com as concentrações recomendadas a campo, diferentemente do que ocorre quando são testados agrotóxicos, onde se utilizam concentrações inferiores à recomendada a campo, dentre elas a concentração letal média ou dose letal média, bem como concentrações mínimas, as quais representam a quantidade encontrada no pólen e no néctar. Por isso, mais estudos são necessários a fim de determinar a patogenicidade destes em abelhas. De maneira geral, os patógenos de abelhas além de comprometer um indivíduo, podem comprometer a colônia como um todo, uma vez que podem alterar o comportamento e a fisiologia das abelhas ocasionando, consequentemente, perdas produtivas e na qualidade de seus subprodutos (mel, própolis, geleia real, apitoxina). Uma das maneiras de reduzir a susceptibilidade a patógenos em *A. mellifera* é através da suplementação nutricional (ALAUX et al., 2010; BRODSCHNEIDER;

CRAILSHEIM, 2010). O néctar e o pólen, coletados durante a atividade de forrageamento, são fontes de carboidrato e proteínas, respectivamente, além disso, possuem vitaminas e minerais que beneficiam o sistema imune das abelhas tanto na fase larval quanto adulta (DI PASQUALE et al., 2013). O pólen, quando utilizado na suplementação artificial, tem a capacidade de diminuir a mortalidade de abelhas em consequência das infecções por patógenos, uma vez que atua diretamente na padronização do sistema inato, além disso, as vitaminas e minerais proporcionam aumento na expectativa de vida das abelhas (DOLEZAL; TOTH, 2018). Assim, colônias bem nutridas possuem menor riscos de contágio por doenças e epizootias.

As abelhas, por sua vez, têm capacidade de farmacofagia e de farmacoforia, ou seja, com os produtos adquiridos na atividade de forrageamento possuem a capacidade de elaborar produtos eficientes contra patógenos e parasitas, através de glândulas específicas (ERLER; MORITZ, 2016). Ademais, como insetos sociais, desenvolveram habilidades comportamentais de combate a doenças, tais como: divisão do trabalho; autolimpeza (*grooming*); não permitir a entrada de indivíduos contaminados na colônia; coletar substâncias antimicrobianas no ambiente durante o forrageamento; remoção de cadáveres contaminados; encapsulamento de patógenos; remover ou canibalizar indivíduos jovens contaminados; abandonar colônia contaminada; acasalamento de múltiplas rainhas; aumentar recombinação genética; proteção individual da rainha; utilização de secreções microbianas; construção de ninhos com materiais antimicrobianos; transferência de traços imunológicos (CREMER; ARMITAGE; SCHMID-HEMPEL, 2007; EVANS et al., 2006; KENNA et al., 2019). Estas habilidades permitem redução do impacto causado pelos patógenos em colônias de *A. mellifera*.

A fim de mitigar o impacto de patógenos sobre as abelhas Brosi et al. (2017) sugerem utilizar fatores evolutivos para limitar a transmissão de doenças, sendo estas, realizadas através da redução do transporte de abelhas para polinizar áreas; busca de métodos mais sustentáveis para o manejo de doenças; manter abelhas susceptíveis vivas e permitir que as sobreviventes às doenças se propaguem; aumentar a diversidade genotípica; resistência comportamental; estímulo da diversidade e flexibilidade alimentar. No que diz respeito a efeitos de fungos entomopatogênicos, também utilizados para o controle do patógeno *V. destructor*, em *A. mellifera*, ainda são necessários mais estudos sobre o comportamento e a fisiologia deste inseto quando contaminado, além de outros estudos a campo

utilizado a associação com outros fatores estressantes, ou em laboratório com diferentes concentrações e formulados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos (UTFPR – DV), nos Laboratórios de Controle Biológico I e II (LABCON), na Unidade de Ensino e Pesquisa em Apicultura (UNEPE – Apicultura) e no Laboratório Multiusuário Central de Análises (LABCA).

4.1 TRATAMENTOS

Os produtos utilizados foram obtidos junto à uma empresa parceira, sendo estes liberados e comercializados no Brasil (AGROFIT, 2025). Os produtos são formulados com os fungos entomopatogênicos: *Beauveria bassiana* IBCB 66, *Metarhizium anisopliae* IBCB 425 e *Cordyceps fumosorosea* ESALQ 4778', os quais foram diluídos e utilizados nas concentrações 1×10^9 , 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 conídios. mL⁻¹. Como tratamento controle foi utilizado água destilada esterilizada e como controle positivo a CL₅₀ de 48 horas para *A. mellifera*, do inseticida sintético neonicotinoide imidacloprido.

4.2 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*

Para a realização dos experimentos foram utilizadas abelhas operárias adultas da espécie *A. mellifera* africanizada, de idade não identificada. Estas abelhas foram coletadas em colmeias do tipo Langstroth, provenientes do apiário experimental da UNEPE – Apicultura. As abelhas coletadas estavam aderidas aos quadros laterais da colônia e foram coletadas em cinco diferentes colônias, para reduzir efeito de colônia, sendo estas alocadas em gaiolas de PVC (20 cm de altura x 15 cm de diâmetro) distintas e identificadas, e transportadas ao LABCON I para realização imediata dos experimentos.

4.2.1 Pulverização direta dos tratamentos sobre operárias de *Apis mellifera*

Para a realização deste bioensaio, as operárias contidas nas gaiolas foram anestesiadas com CO₂ durante 120 segundos, para então serem transferidas para placas de Petri de vidro (1,5 cm de altura x 15 cm de diâmetro), previamente

esterilizadas. As operárias foram agrupadas em dez abelhas por placa, com cinco repetições por tratamento. Em seguida, utilizando uma torre de Potter, cada grupo de abelhas recebeu a pulverização de 290 μ L do respectivo tratamento (metodologia adaptada de (COLOMBO et al., 2020) COLOMBO et al., 2020; POTRICH et al., 2018). Estas abelhas foram então transferidas para gaiolas plásticas. Estas gaiolas foram confeccionadas com recipientes plásticos (9,6 cm de altura x 9,8 cm de diâmetro) contendo ventilação e abertura na parte superior para a reposição de alimento. A abertura maior foi apoiada em uma placa de Petri de vidro (1,5 cm de altura x 15 cm de diâmetro), sendo a parte superior recoberta por uma placa de Petri de vidro (1,5 cm de altura x 6 cm de diâmetro) (FIGURA 1). Para alimentação, foi fornecida uma solução de sacarose (1:1) em bebedouros plásticos (2 cm de altura x 2,8 cm de diâmetro) cobertos por tela, *ad libitum*.

FIGURA 1 – GAIOLAS UTILIZADAS PARA ACONDICIONAMENTO DE OPERÁRIAS PARA AVALIAÇÃO DE SOBREVIVÊNCIA



FONTE: A autora (2025)

As gaiolas foram acondicionadas em estufas do tipo B.O.D (30 ± 2 °C; U.R. $60\% \pm 10\%$; escuro), sendo realizada avaliação da sobrevivência das abelhas

operárias a cada 24 horas, por um período de 120 horas (metodologia adaptada OECD 213). Em cada avaliação foi realizada a reposição de alimento e as abelhas mortas expostas aos tratamentos contendo fungos entomopatogênicos, foram retiradas das gaiolas e submetidas ao teste de câmara úmida para confirmação da mortalidade pelos fungos testados. Após 120 horas de avaliação, as abelhas sobreviventes foram submetidas às avaliações comportamentais.

4.2.2 Exposição aguda aos tratamentos através da alimentação de operárias de *Apis mellifera*

Para este bioensaio as abelhas operárias foram anestesiadas com CO₂ durante 120 segundos, e transferidas diretamente para as gaiolas plásticas, em grupos de dez abelhas, totalizando cinco repetições por tratamento. Estas abelhas foram mantidas sem alimento e no escuro por duas horas.

Após este período, foram fornecidos os tratamentos incorporados à solução de sacarose (1:1), por um período de duas horas. O consumo do alimento foi avaliado através da pesagem antes e após o fornecimento para as operárias. Decorrido o período de alimentação com os tratamentos, os bebedouros foram substituídos por outros limpos, contendo apenas solução de sacarose.

Assim como no bioensaio de pulverização, as gaiolas foram alocadas em estufas do tipo B.O.D (30 ± 2 °C; U.R. $60\% \pm 10\%$; escuro), para a avaliação da sobrevivência das abelhas operárias a cada 24 horas, por um período de 120 horas (metodologia adaptada OECD 213), e seguindo os demais procedimentos descritos anteriormente.

4.2.3 Avaliação comportamental: Deslocamento vertical

O teste de altura foi realizado, a partir de metodologia adaptada Libardoni et al., 2023 e Palosch et al., 2023. Foram utilizadas 20 abelhas de cada tratamento, sendo 10 para o teste de voo, e 10 para o teste de retomada de voo, no qual cada abelha corresponde a uma repetição. O teste foi realizado em uma sala com ausência de luz e utilizou-se uma torre de voo (35 cm x 35 cm de largura e 105 cm de altura) de madeira, contendo um estímulo luminoso na parte superior (FIGURA 2). A torre de voo apresenta uma fita métrica no seu interior.

FIGURA 2 – TORRE DE VOO UTILIZADA PARA O BIOENSAIO DE DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO E QUEDA LIVRE)



FONTE: A autora (2025).

Para a realização deste experimento as abelhas foram alocadas na base da torre, e com cronômetro foi avaliado o tempo que as abelhas levaram para atingir a altura máxima de voo, durante o período de um minuto. Avaliou-se a permanência da abelha na base da torre, a altura máxima obtida, bem como o voo diretamente da base até o estímulo luminoso no topo da torre.

Complementar a este teste, foi realizado o teste de retomada de voo em queda livre. Neste teste, as abelhas foram liberadas, uma a uma, na parte superior da torre, e verificou-se a altura a qual a abelha apresentou a retomada de voo em direção a luz. Foram consideradas as diferentes alturas, assim como queda diretamente à base da torre, o ponto zero, e voo diretamente à luz.

4.3 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM RAINHAS DE *Apis mellifera*

Neste experimento foram produzidas rainhas pelo método de Doolittle (1889), seguindo metodologia descrita por Colombo et al. (2020). Larvas de 0 a 24 horas de idade foram transferidas para cúpulas individualizadas de acrílico contendo geleia real. Na geleia real foram incorporados os produtos comerciais formulados com os diferentes fungos na concentração de 1×10^8 conídios. mL^{-1} , as larvas do grupo controle foram alimentadas com geleia real pura. A concentração de 1×10^8 conídios. mL^{-1} foi utilizada em razão das demais concentrações, em testes prévios, do presente trabalho, não terem efeito ($p > 0,05$) na sobrevivência de operárias de *A. mellifera*.

Para este experimento foram utilizadas larvas de cinco colônias como matrizes, a fim de reduzir o efeito de colônia. O bioensaio contou com nove repetições, onde em cada uma delas foram compostas por seis larvas alimentadas com cada um dos tratamentos, correspondendo a 24 larvas por sarrafo, totalizando assim, 54 larvas por tratamento. As transferências foram realizadas em temperatura média de 30 °C e umidade relativa média de 70%. As cúpulas acrílicas contendo as larvas de operárias foram colocadas em um sarrafo, no núcleo superior de cada mini-recrã. Após três dias, as transferências de larvas foram verificadas quanto à aceitação. Ao nono dia transcorrido da transferência das larvas, foram retiradas as realeiras das mini-recrãs, e alocadas em frascos de vidro de 20 mL esterilizados (FIGURA 3), os frascos contendo as realeiras foram acondicionados em estufa do tipo B.O.D ($34 \pm 2^\circ\text{C}$ e U. R. de $60 \pm 5\%$) sob monitoramento ininterrupto de 10 em 10 minutos, até a emergência das rainhas.

FIGURA 3 – REALEIRAS ALOCADAS EM FRASCOS DE VIDRO E ACONDICIONADAS EM ESTUFA TIPO B.O.D PARA EMERGÊNCIA

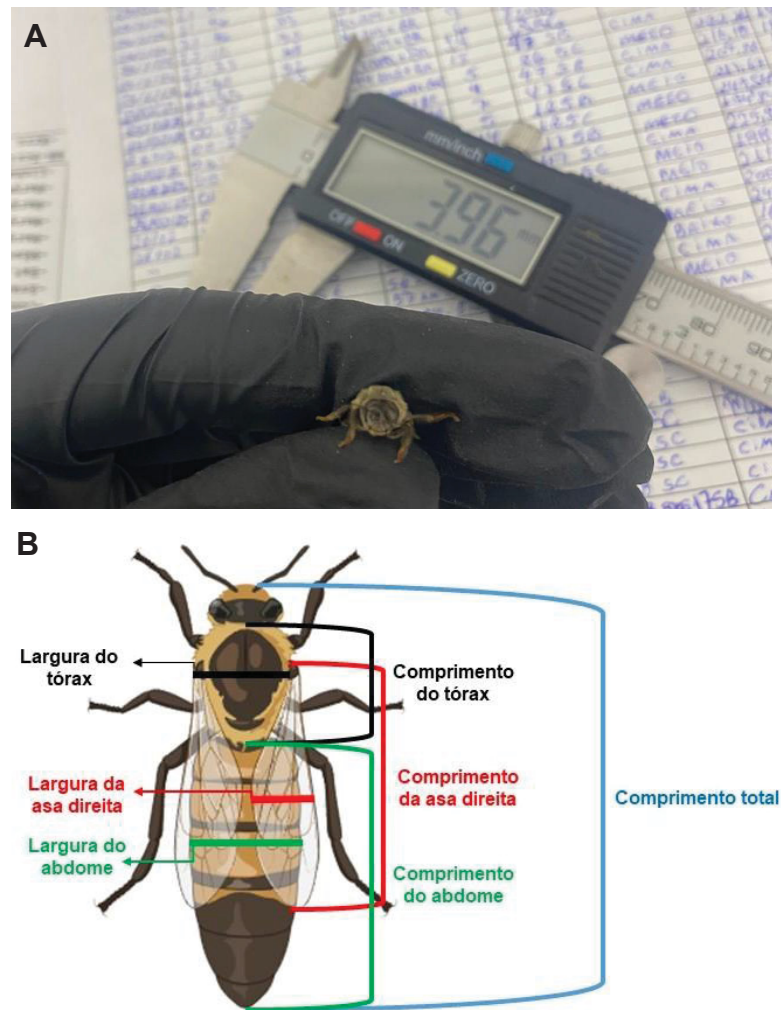


FONTE: A autora (2025)

4.3.1 Avaliações morfométricas

À emergência, as rainhas foram pesadas em balança de precisão de 0,001 mg (SHIMADZU/ATX224, Filipinas); e mesuradas com paquímetro digital (Kingtools 502.150BL, Brasil) o comprimento total da abelha rainha (mm), o comprimento e a largura de abdome (mm), o comprimento e a largura da asa direita (mm), o comprimento, a largura, e a altura do tórax (mm) (Figura 4).

FIGURA 4 A – AFERIÇÃO DA MORFOMETRIA DE RAINHAS B – EXEMPLIFICAÇÃO DOS LOCAIS DE MENSURAÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS EM RAINHAS



FONTE: A – A autora (2025). B – Adaptado de Alves (2023)

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para responder aos objetivos da pesquisa e considerando o design experimental, realizou-se uma análise estatística composta por cinco etapas:

4.4.1 Análise de Sobrevivência de Operárias

A sobrevivência de operárias foi avaliada para cada fungo, com base na confirmação da presença dos mesmos quando realizada câmara úmida. Para esta análise foi utilizado o modelo de riscos proporcionais de Cox com efeitos mistos, que

permite considerar a estrutura hierárquica dos dados por meio da inclusão de efeitos aleatórios. Neste caso, o efeito aleatório foi atribuído à gaiola, assumindo-se que indivíduos mantidos na mesma unidade experimental possam compartilhar condições não observadas que influenciem o tempo até o evento (morte).

A formulação geral do modelo foi:

$$h_{ij}(t) = h_0(t) \cdot \exp(\beta_1 \cdot \text{concentração}_i + \beta_2 \cdot \text{método}_i + \beta_3 \cdot \text{concentração} \times \text{método})_i + b_j$$

em que $h_0(t)$ representa a função de risco basal, os parâmetros β referem-se aos efeitos fixos das variáveis de interesse (concentração, método de exposição e sua interação), e $b_j \sim N(0, \sigma^2)$ representa o efeito aleatório associado à gaiola j , conforme abordagem descrita por Therneau e Grambsch (2000).

A comparação entre o modelo com efeito aleatório e o modelo com apenas efeitos fixos foi realizada por meio de testes de razão de verossimilhança, com o objetivo de verificar a significância estatística da variação atribuída às gaiolas. Como o efeito aleatório de gaiola não se mostrou estatisticamente significativo, foi adotado o modelo com apenas efeitos fixos, priorizando a parcimônia e a robustez da inferência estatística, conforme preconizado em análises de modelos hierárquicos.

Após a seleção do modelo mais adequado foi realizada a avaliação da significância estatística dos efeitos principais dos tratamentos, a saber: método de aplicação, concentração do fungo e a interação entre método e concentração.

A significância desses efeitos foi testada por meio do teste de Wald, com nível de significância de 5%. Esse teste avalia se os coeficientes associados às variáveis explicativas diferem significativamente de zero, utilizando a razão entre a estimativa do coeficiente e seu erro-padrão. Sob a hipótese nula, essa razão segue uma distribuição qui-quadrado, sendo amplamente utilizado na inferência sobre parâmetros em modelos lineares generalizados e modelos de sobrevivência Agresti (2015).

Com base nos resultados de significância obtidos pelo teste de Wald, as curvas de sobrevivência foram geradas apenas para os tratamentos (ou combinações de fatores) que apresentaram diferenças estatisticamente significativas, com o objetivo de facilitar a visualização e a interpretação dos efeitos identificados como relevantes.

A análise foi apresentada graficamente por meio da geração de curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier, estratificadas pelas covariáveis de interesse, de modo a permitir a comparação visual entre os grupos experimentais (combinações de tratamentos e condições ambientais). As curvas de sobrevivência estimadas para cada combinação de concentração e método de aplicação foram comparadas utilizando o teste de log-rank em comparações pareadas (duas a duas), com nível de significância de 5%, e ajuste dos valores de p pelo método de Bonferroni, para controle do erro do tipo I em múltiplas comparações.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os pacotes survival e survminer no software R Therneau (2023; Kassambara e Kosinski (2023).

4.4.2 Análise de voo e queda

Tanto para a análise de voo quanto de queda, a variável resposta foi contínua, deslocamento vertical em centímetros, e os dados foram analisados com modelos lineares de efeitos fixos (ANOVA) com os mesmos fatores e estrutura de interação.

O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + (\tau\alpha)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} : altura (deslocamento vertical) observada para a abelha k , sob a concentração i e método j ,

μ : média geral,

τ_i : efeito da i -ésima concentração de conídios,

α_j : efeito do j -ésimo método de aplicação,

$(\tau\alpha)_{ij}$: interação entre concentração e método,

ε_{ijk} : erro aleatório, assumido com distribuição normal, média zero e variância constante.

A significância estatística dos efeitos principais e da interação foi avaliada por Análise de Variância (ANOVA) com soma de quadrados do tipo I.

Em casos nos quais a interação concentração × método não foi significativa, as comparações entre os níveis dos fatores principais foram realizadas de forma independente, com ajuste de Tukey para múltiplas comparações, garantindo controle do erro do tipo I. As médias ajustadas (estimativas marginais) foram utilizadas para facilitar a interpretação dos efeitos.

Procedimentos adicionais:

As análises foram conduzidas separadamente para cada fungo.

O nível de significância adotado foi de 5%.

Gráficos de barras ou caixas com letras indicativas de agrupamentos estatísticos foram utilizados para apresentação dos resultados.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os seguintes pacotes do R: tidyverse para organização, manipulação e visualização dos dados Wickham et al. (2023); em means para obtenção de estimativas marginais (médias ajustadas) e realização de comparações múltiplas com correção de Tukey Lenth (2023); e multcompView para geração de agrupamentos por letras nas comparações de médias Halekoh (2016).

4.4.3 Análise de morfometria de rainhas

Todos os dados relacionados a morfometria de rainhas foram analisados individualmente. Primeiramente, os dados foram verificados quanto à normalidade Shapiro e Wilk, (1965) e homogeneidade Burr e Foster (1972). Quando não apresentaram distribuição normal e/ou homogênea, os dados foram submetidos à análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, enquanto os dados que apresentaram significância a 0,05 foram comparados pelo teste de Dunn, com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas com o software estatístico R versão 4.0.5 (R Core Team, 2021).

5 RESULTADOS

As análises estatísticas foram conduzidas, separadamente, para cada fungo entomopatogênico (*B. bassiana*, *M. anisopliae* e *C. fumosorosea*), utilizando os dados de mortalidade confirmada. Para cada espécie de fungo entomopatogênico, também foram realizadas análises estatísticas separadamente para abelhas rainhas e abelhas operárias. Essa estratégia foi adotada a fim de isolar os efeitos específicos de cada agente entomopatogênico, permitindo avaliar de forma acurada a influência da concentração e do método de exposição (alimentação ou pulverização) sobre a sobrevivência e o comportamento dessas abelhas. A análise independente por casta e por fungo favorece a identificação de padrões específicos de susceptibilidade e de resposta físico-comportamental, contribuindo para a formulação de recomendações mais seguras sobre o uso desses microrganismos em práticas de manejo integrado de pragas.

5.1 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*

O efeito aleatório de gaiola foi testado e não foi significativo. Assim, adotou-se em toda a análise, os modelos de efeitos fixos.

5.1.1 Sobrevivência de operárias expostas a *Metarhizium anisopliae*

Verificou-se que há efeito significativo para o fator concentração aplicada (TRAT) e para o método de aplicação (APLICACAO) (TABELA 1), porém não foi observado efeito significativo da interação entre esses dois fatores.

TABELA 1 – TESTE DE WALD PARA SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS ADULTAS DE *A. mellifera* EXPOSTAS A *Metarhizium anisopliae*

fonte	loglik	Chisq	Df	Pr(> Chi)
NULL	-3.307,97281			
TRAT	-3.217,31046	181,32471	6	0,00000
APLICACAO	-3.205,26414	24,09263	1	0,00000
TRAT:APLICACAO	-3.201,67879	7,17071	6	0,30535

FONTE: A autora (2025).

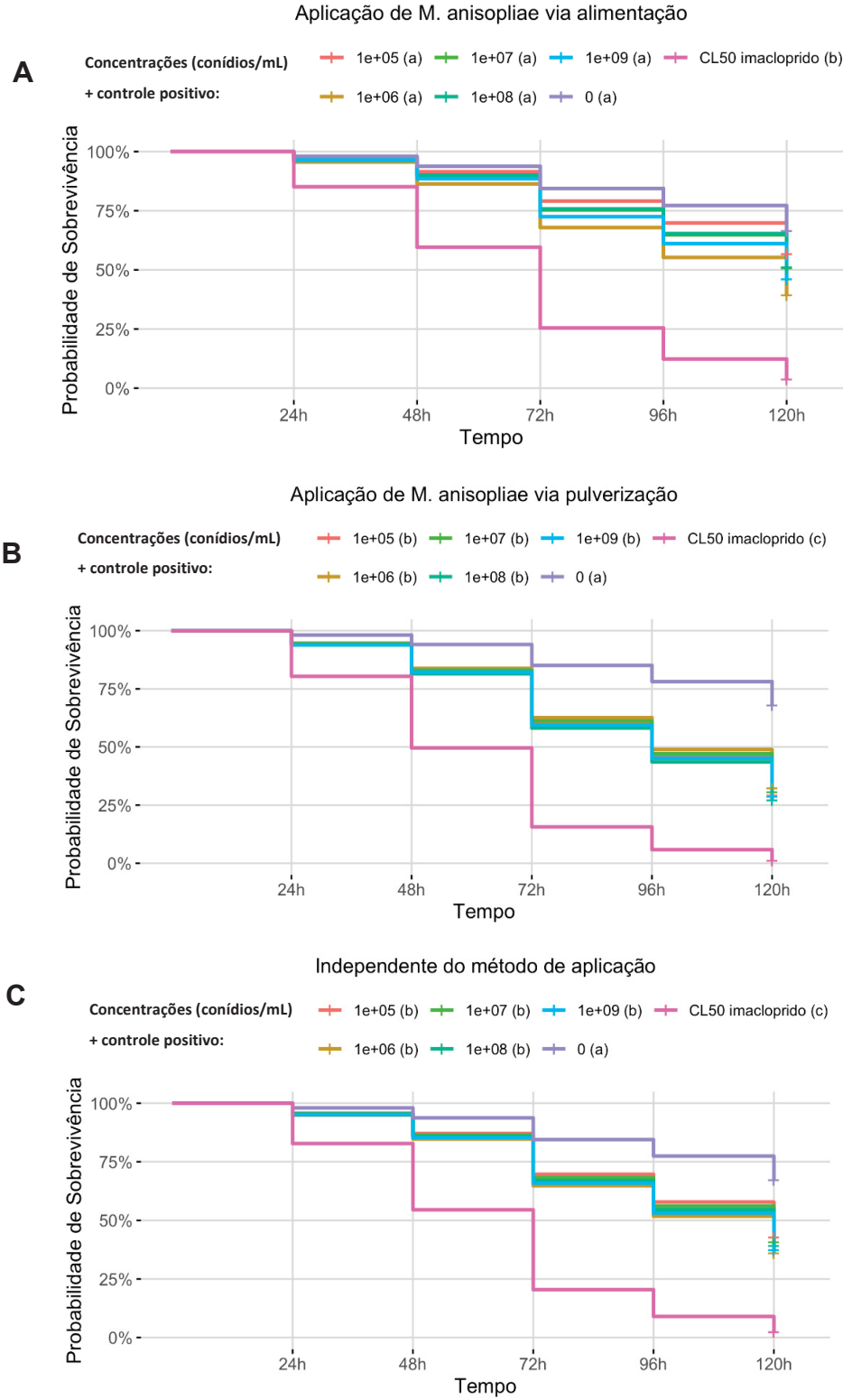
Apesar da ausência de interação significativa, foram realizadas as seguintes comparações adicionais para fins de interpretação detalhada dos efeitos: Comparações entre as concentrações dentro de cada método de aplicação; Comparações entre os métodos de aplicação dentro de cada concentração específica; Comparações entre os métodos de aplicação desconsiderando a concentração (média marginal dos métodos); Comparações entre as concentrações, independentemente do método de aplicação (média marginal das concentrações).

Essa abordagem é justificada pelo interesse em identificar diferenças específicas entre níveis dos fatores, que podem ser biologicamente relevantes, mesmo quando a interação global entre os fatores não atinge significância estatística. Em estudos com organismos vivos, a variabilidade biológica pode levar a efeitos localizados que não se manifestam como interações globais detectáveis no modelo. Assim, a análise detalhada das comparações entre tratamentos permite uma interpretação mais completa e informada dos resultados experimentais.

No método de aplicação por alimentação, não houve diferenças significativas na sobrevivência das operárias entre as concentrações de *M. anisopliae* e o controle negativo (0 conídios/mL), excetuando-se o controle positivo (CL₅₀ em 48 horas de imidacloprido), que apresentou efeito distinto e resultou na letalidade total das operárias em relação as operárias dos demais tratamentos (FIGURA 5). Por outro lado, no método de aplicação por pulverização, bem como na análise global, foram identificadas diferenças significativas entre todas as concentrações testadas e o controle negativo (0 conídios/mL) (FIGURA 5), indicando maior sensibilidade das abelhas a esse tipo de exposição. No entanto, o controle positivo (CL₅₀ do imidacloprido), também diferiu quando comparado aos tratamentos contendo *M.*

anisopliae e ao controle negativo (0 conídios.mL), sendo que ao final das 120 horas de avaliação, ainda havia operárias vivas oriundas da exposição a *M. anisopliae*, o que não foi observado para as abelhas expostas ao imidacloprido (controle positivo).

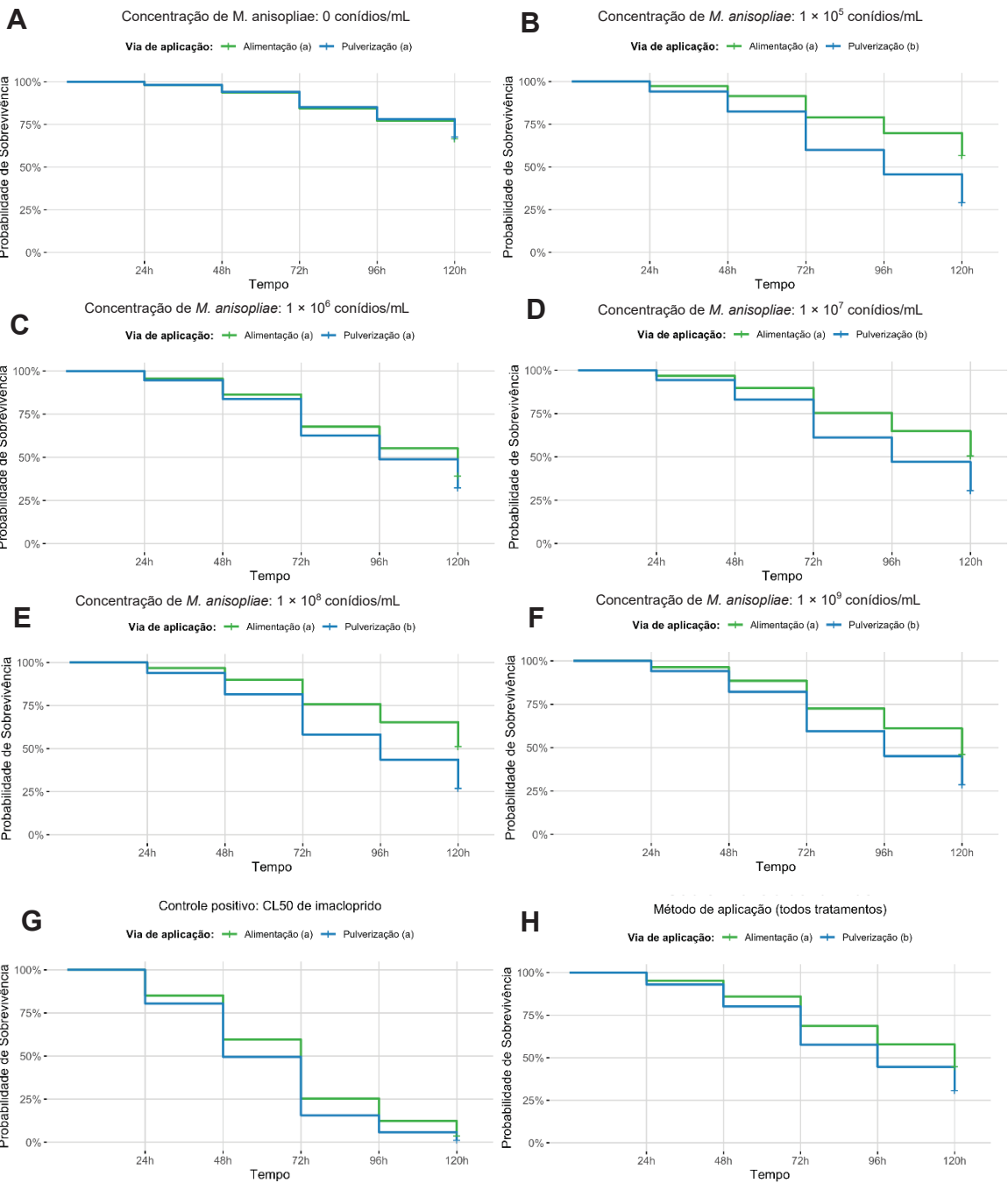
FIGURA 5 – GRÁFICO DE SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS ADULTAS DE *Apis mellifera*, POR KAPLAN-MEIER, AJUSTADO AO PERÍODO (HORAS) APÓS A EXPOSIÇÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE *Metarhizium anisopliae*, CL₅₀ DE IMIDACLOPRIDO EM 48 HORAS E CONTROLE. A) APÓS ALIMENTADAS COM OS TRATAMENTOS B) APÓS PULVERIZADAS COM OS TRATAMENTOS C) ANÁLISE INDEPENDENTE DO MÉTODO DE APLICAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025)

Ao realizar a comparação entre os métodos de aplicação dentro de cada concentração específica, observou-se diferença entre os métodos de aplicação (alimentação e pulverização) em todas as concentrações testadas, exceto na concentração 1×10^6 conídios/mL, e nos dois controles (controle negativo e controle positivo) (FIGURA 6). Esses resultados indicam que, para a maioria das concentrações, o método de aplicação via pulverização é o que mais influencia a sobrevivência das operárias.

FIGURA 6 – GRÁFICO DE SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*, POR KAPLAN-MEIER, AJUSTADO AO PERÍODO (HORAS) APÓS A EXPOSIÇÃO A *Metarhizium anisopliae*, CL50 DE IMIDACLOPRIDO E CONTROLE. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025)

Quando se considerou a análise global, desconsiderando a estratificação por concentração de *M. anisopliae* (FIGURA 6H), foi verificada diferença entre os métodos de aplicação, o que reforça a hipótese de que a via de exposição ao fungo entomopatogênico exerce efeito independente e relevante sobre os pontos avaliados. Além disso, o método de pulverização apresentou efeitos mais impactantes sobre a sobrevivência das abelhas quando comparado à via de alimentação. Porém, ao comparar a sobrevivência das operárias expostas ao entomopatógeno e ao controle positivo, independentemente da via de exposição, verificou-se que, ao final das 120 horas, todas as abelhas submetidas ao imidacloprido (controle positivo) estavam mortas, enquanto, entre as submetidas ao entomopatógeno, ainda havia, aproximadamente, 25% das operárias vivas.

5.1.2 Deslocamento vertical de operárias expostas a *Metarhizium anisopliae*

Tanto o fator concentração aplicada (trat) quanto o método de aplicação (aplic) apresentaram efeito significativo sobre o deslocamento vertical ($p < 0,05$) (TABELA 2). Em contrapartida, a interação (trat:aplic) não apresentou significância ($p = 0,92008$). Desta forma, apenas os efeitos isolados foram estudados.

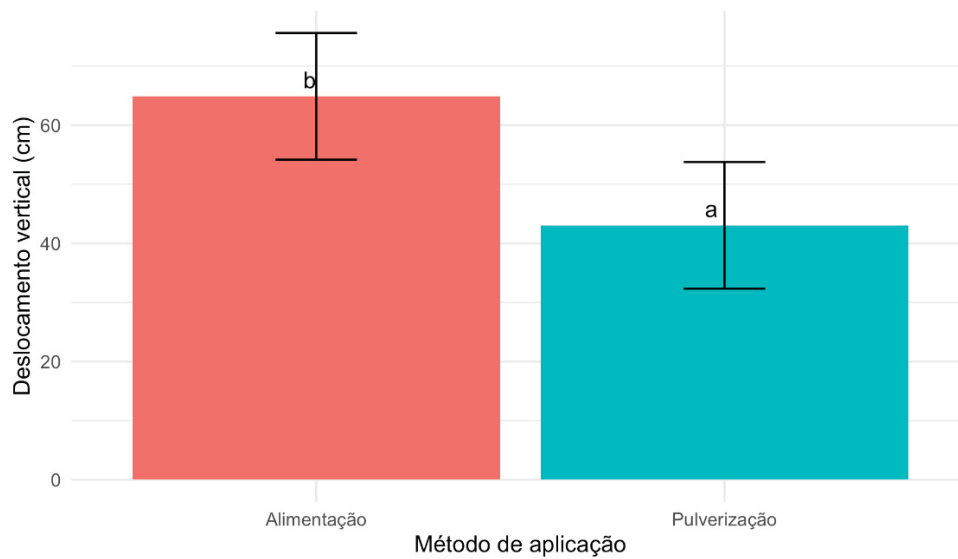
TABELA 2 – TESTE F PARA COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS E CONCENTRAÇÃO APLICADA SOBRE O DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO).

fonte	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
trat	20.154,76667	5	2,29835	0,05001
aplic	14.300,83333	1	8,15397	0,00515
trat:aplic	2.504,66667	5	0,28562	0,92008
Residuals	189.415,60000	108		

FONTE: A autora (2025)

Verifica-se diferença entre os métodos, nos quais as abelhas pulverizadas com *M. anisopliae* apresentam menor deslocamento vertical (voo) quando comparadas às abelhas expostas via alimentação (FIGURA 7).

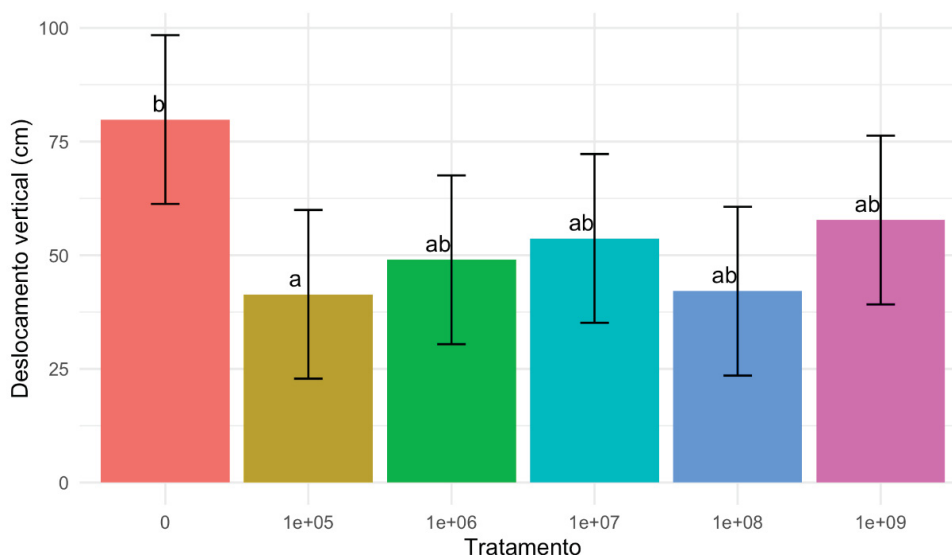
FIGURA 7 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO VERTICAL) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Metarhizium anisopliae* VIA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025)

Quando comparadas as diferentes concentrações, pode-se observar pouca diferença entre os tratamentos e o controle. Apenas a menor concentração (1×10^5) do produto formulado com *M. anisopliae*, demonstrou interferência na capacidade de voo, quando comparado ao controle (0) (FIGURA 8).

FIGURA 8 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO VERTICAL) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Metarhizium anisopliae* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 CONÍDIOS.mL⁻¹) E AO CONTROLE (0). LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025)

Os resultados do teste F para os dados de queda referentes ao fungo *M. anisopliae*, demonstram que apenas o método de aplicação (aplic) apresentou efeito estatisticamente significativo sobre o deslocamento vertical ($p < 0,05$) (TABELA 3)

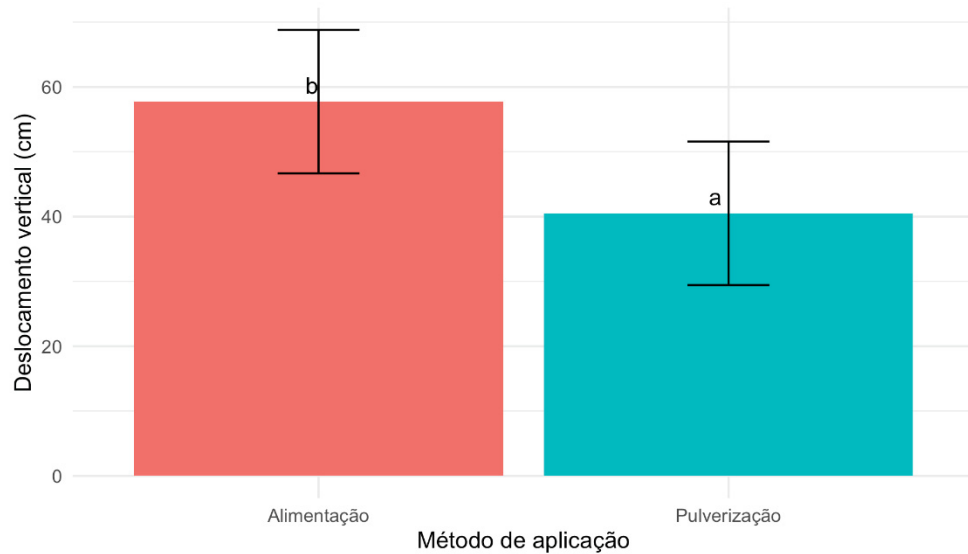
TABELA 3 – TESTE F PARA COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS E CONCENTRAÇÃO APLICADA SOBRE O DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE).

fonte	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
trat	18.658,26667	5	1,99402	0,08523
aplic	8.909,63333	1	4,76089	0,03128
trat:aplic	2.651,06667	5	0,28332	0,92136
Residuals	202.113,40000	108		

FONTE: A autora (2025)

As abelhas expostas a *M. anisopliae* via pulverização apresentaram retomada de voo mais baixa, em relação as abelhas expostas ao mesmo fungo via alimentação (FIGURA 9).

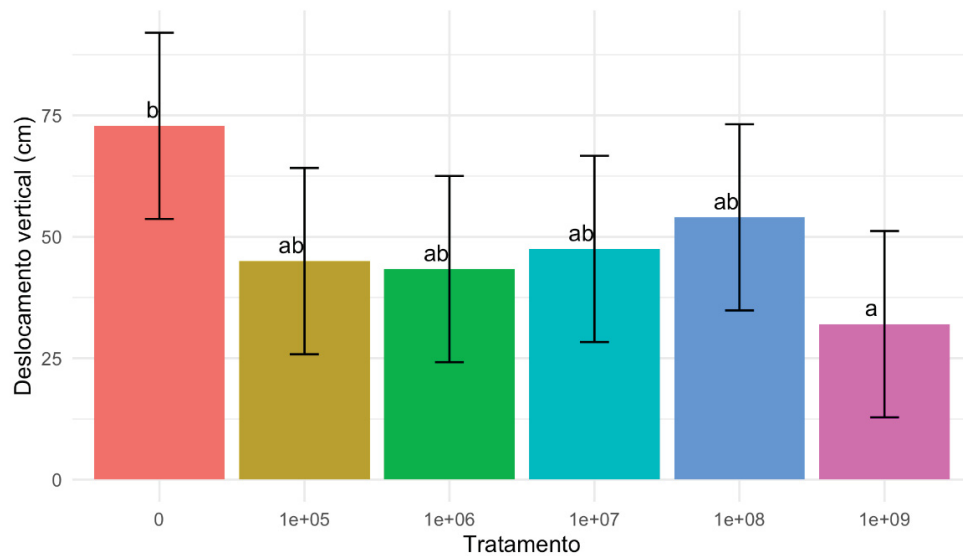
FIGURA 9 – DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Metarhizium anisopliae* VIA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025)

Apenas as abelhas expostas a concentração de 1×10^9 conídios.mL⁻¹, tiveram retomada de voo em menor altura, diferindo do controle (0) (FIGURA 10).

FIGURA 10 – DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Metarhizium anisopliae* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 CONÍDIOS.mL⁻¹) E AO CONTROLE (0). LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025)

5.1.3 Sobrevivência de operárias expostas a *Beauveria bassiana*

Houve efeitos significativos para o fator concentração aplicada TRAT e para o método de aplicação (APLICACAO) de *B. bassiana*, porém não foi observado efeito significativo da interação entre esses dois fatores (TABELA 4).

TABELA 4 – TESTE DE WALD PARA SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS EXPOSTAS A *Beauveria bassiana*

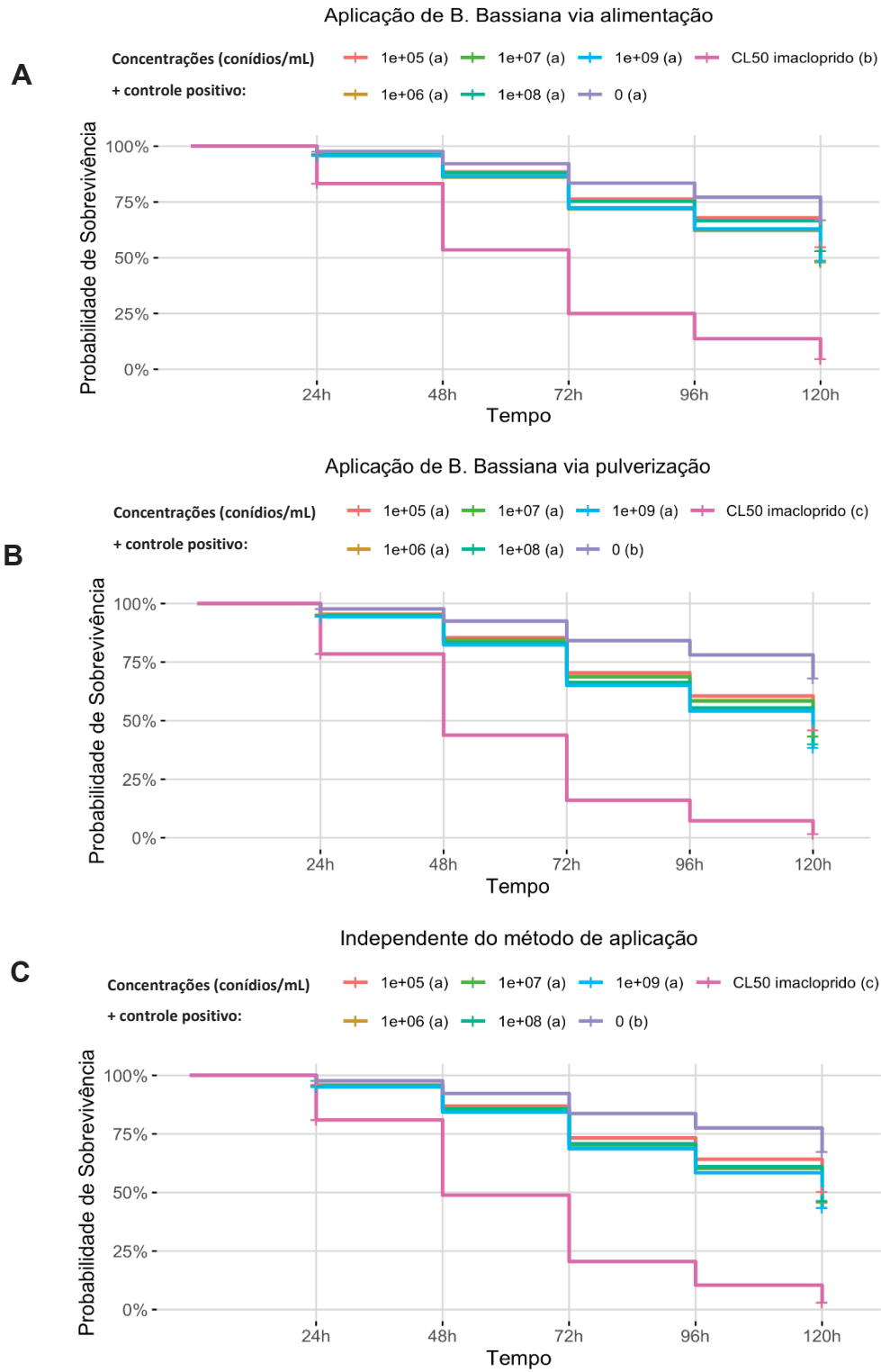
fonte	loglik	Chisq	Df	Pr(> Chi)
NULL	-3.044,92528			
TRAT	-2.953,42256	183,00543	6	0,00000
APLICACAO	-2.950,46802	5,90909	1	0,01506
TRAT:APLICACAO	-2.949,73182	1,47240	6	0,96131

FONTE: A autora (2025)

Seguindo o mesmo procedimento adotado na análise de *M. anisopliae*, foram realizadas comparações adicionais entre os níveis dos fatores principais, a fim de detalhar as possíveis diferenças específicas entre tratamentos. Essas comparações incluíram as concentrações dentro de cada método, os métodos dentro de cada concentração, bem como as comparações independentes para concentração e método de aplicação.

Verificou-se o mesmo padrão de resposta de operárias de *A. melífera* submetidas a *B. bassiana* quando comparado ao observado para *M. anisopliae*. No método via alimentação não foram detectadas diferenças significativas na sobrevivência das operárias entre as concentrações de *B. bassiana* e o controle negativo (sem a presença de *B. bassiana*). Por outro lado, houve redução na sobrevivência das operárias quando alimentadas com dieta contendo o controle positivo (imidacloprido) (FIGURA 11A). Para o bioensaio de pulverização (FIGURA 11B), bem como na análise global (FIGURA 11C), foram observadas diferenças significativas, com redução na sobrevivência das operárias expostas a todas as concentrações do fungo entomopatogênico e ao controle negativo. Isso indica uma maior sensibilidade das abelhas à exposição por contato direto com os conídios.

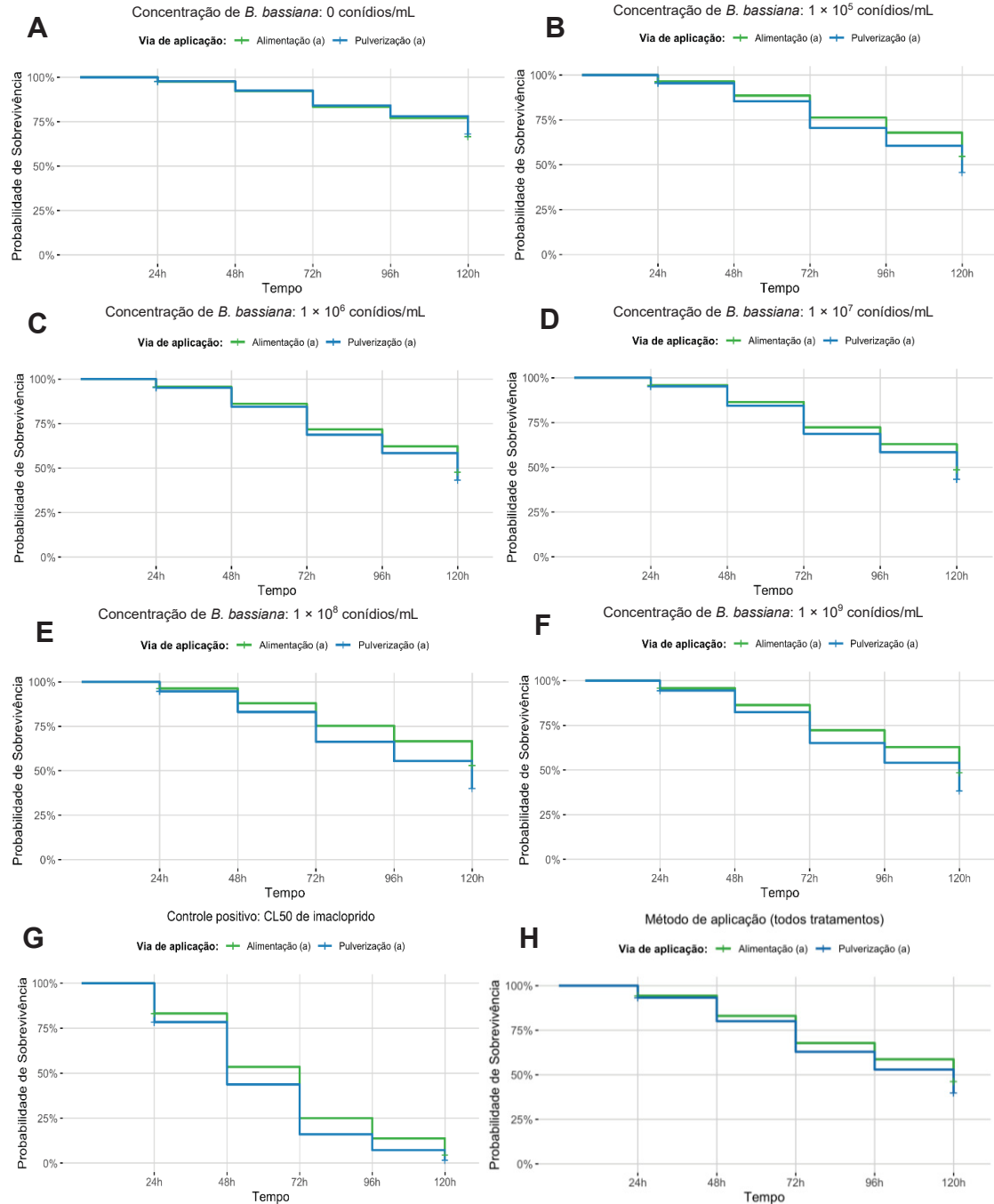
FIGURA 11 – GRÁFICO DE SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*, POR KAPLAN-MEIER, AJUSTADO AO PERÍODO (HORAS) APÓS A EXPOSIÇÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE *Beauveria bassiana*, CL50 DE IMIDACLOPRIDO E CONTROLE. A) APÓS ALIMENTADAS COM OS TRATAMENTOS B) APÓS PULVERIZADAS COM OS TRATAMENTOS C) ANÁLISE INDEPENDENTE DO MÉTODO DE APLICAÇÃO LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

Ao agrupar todas as concentrações e comparar não foram identificadas diferenças na sobrevivência de operárias entre os métodos de aplicação (FIGURA 12).

FIGURA 12 – GRÁFICO DE SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*, POR KAPLAN-MEIER, AJUSTADO AO PERÍODO (HORAS) APÓS A EXPOSIÇÃO A *Beauveria bassiana*, CL₅₀ DE IMIDACLOPRIDO E CONTROLE. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

5.1.4 Deslocamento vertical de operárias expostas a *Beauveria bassiana*

Não houve diferença no deslocamento vertical das operárias expostas a *B. bassiana* em ambos os métodos de exposição (TABELA 5). Além disso, não houve diferença no parâmetro entre as diferentes concentrações a 5%.

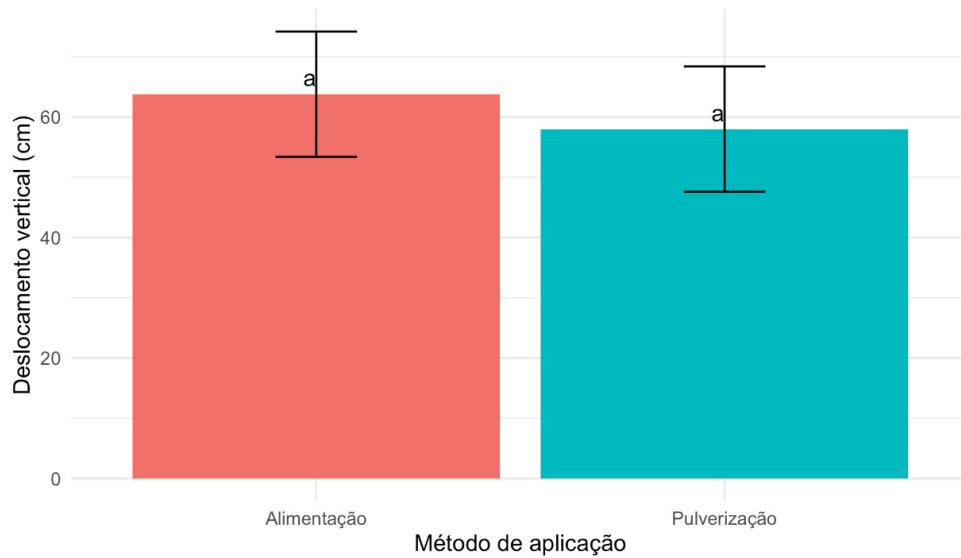
TABELA 5 – TESTE F PARA COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS E CONCENTRAÇÃO APLICADA SOBRE O DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO) EM *Apis mellifera* EXPOSTAS A *Beauveria bassiana*

fonte	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
trat	11.963,24167	5	1,44976	0,21242
aplic	1.003,40833	1	0,60799	0,43725
trat:aplic	1.054,44167	5	0,12778	0,98581
Residuals	178.240,50000	108		

FONTE: A autora (2025).

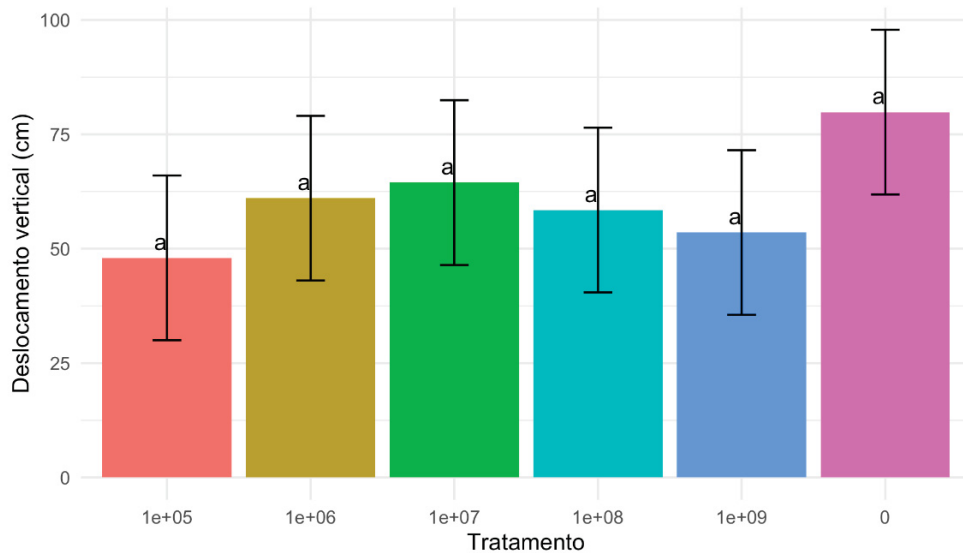
As operárias mantiveram o padrão de deslocamento vertical em direção a luz em ambos os métodos de exposição métodos de exposição a *B. bassiana* (FIGURA 13), bem como nas diferentes concentrações (FIGURA 14).

FIGURA 13 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Beauveria bassiana* VIA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 14 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO VERTICAL) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Beauveria bassiana* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 CONÍDIOS.mL⁻¹) E AO CONTROLE (0). LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

O mesmo pode ser observado para os resultados de queda livre referentes ao fungo *B. bassiana* (TABELA 6). Nota-se que, assim como para voo, nenhum dos tratamentos é significativo.

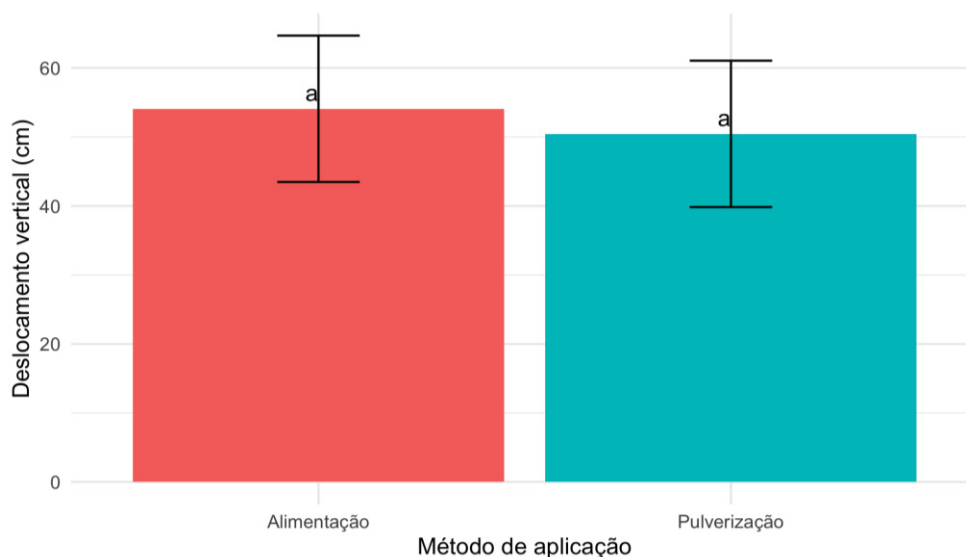
TABELA 6 – TESTE F PARA COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS E CONCENTRAÇÃO APLICADA SOBRE O DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) EM *Apis mellifera* EXPOSTAS A *Beauveria bassiana*

fonte	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
trat	13.960,16667	5	1,62499	0,15950
aplic	396,03333	1	0,23049	0,63213
trat:aplic	2.320,86667	5	0,27015	0,92854
Residuals	185.564,40000	108		

FONTE: A autora (2025).

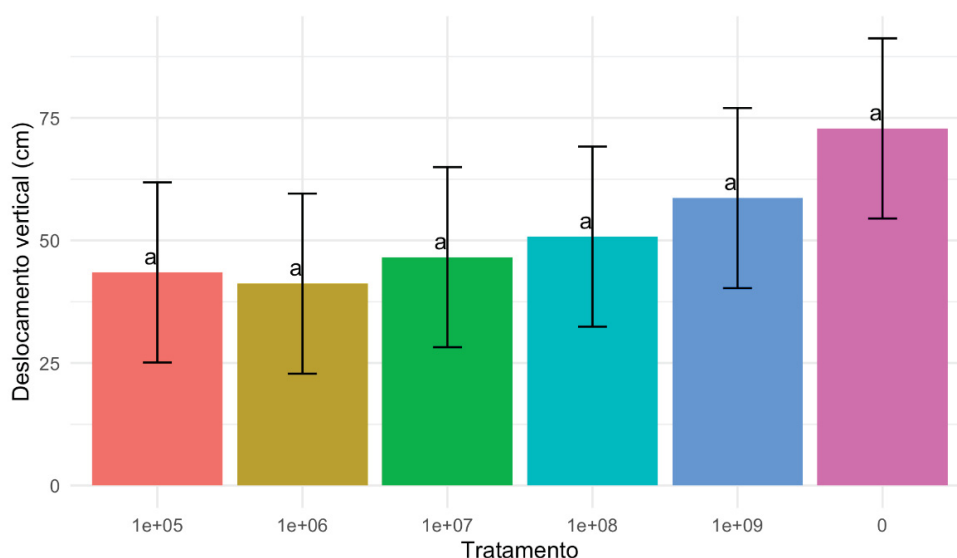
Assim, pode-se afirmar que não houve diferença entre os diferentes modos de exposição do fungo *B. bassiana* as operárias de *A. mellifera* (FIGURA 15), assim como não houve diferença entre as diferentes concentrações do produto, comparados ao grupo controle (FIGURA 16).

FIGURA 15 – DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Beauveria bassiana* VIA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 16 – DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Beauveria bassiana* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 CONÍDIOS.mL⁻¹) E AO CONTROLE (0). LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

5.1.5 Sobrevivência de operárias expostas a *Cordyceps fumosorosea*

Verificou-se que apenas o fator concentração aplicada (TRAT) apresentou efeito significativo sobre a sobrevivência das abelhas ($p < 0,001$) (TABELA 7).

TABELA 7 – TESTE DE WALD PARA SOBREVIVÊNCIA DE *Cordyceps fumosorosea*

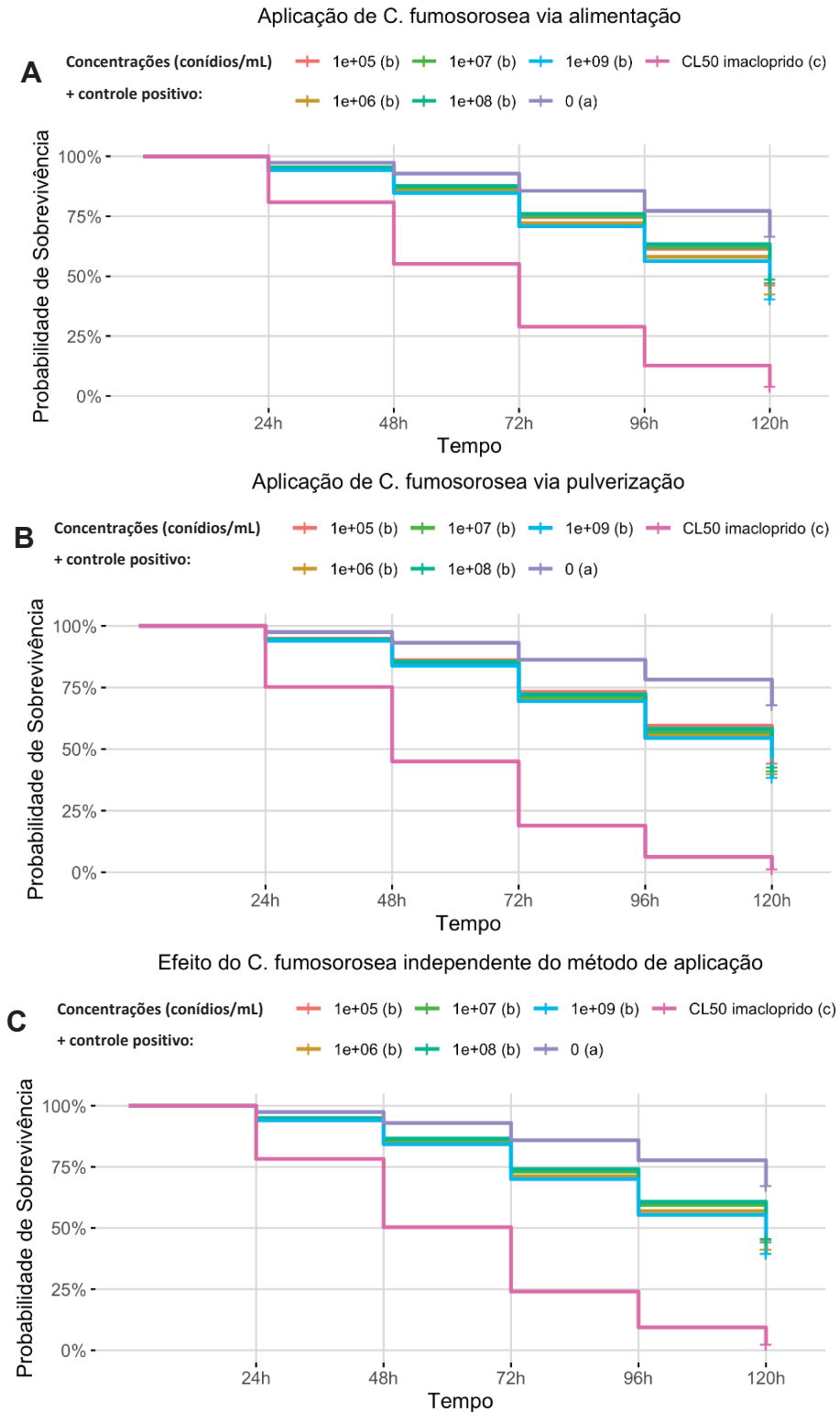
fonte	loglik	Chisq	Df	Pr(> Chi)
NULL	-3.168,83628			
TRAT	-3.075,77409	186,12438	6	0,00000
APLICACAO	-3.074,60284	2,34249	1	0,12589
TRAT:APLICACAO	-3.073,91962	1,36644	6	0,96787

FONTE: A autora (2025).

Em razão disso, foram realizadas comparações apenas entre os níveis do fator concentração, com o objetivo de identificar possíveis padrões de resposta às diferentes concentrações de conídios (FIGURA 17). Foi verificado que *C. fumosorosea*, apresenta padrão de resposta distinto ao observado para *B. bassiana*.

Em ambos os métodos de aplicação, alimentação (FIGURA 17A) e pulverização (FIGURA 17B), foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos contendo *C. fumosorosea* e o controle negativo (0 conídios/mL). Porém, o controle positivo (CL₅₀ em 48 horas de imidacloprido para *A. mellifera*), apresentou maior letalidade quando comparado aos tratamentos contendo o fungo, em ambos os métodos de exposição.

FIGURA 17 – GRÁFICO DE SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*, POR KAPLAN-MEIER, AJUSTADO AO PERÍODO (HORAS) APÓS A EXPOSIÇÃO A *Cordyceps fumosorosea*, CL₅₀ DE IMIDACLOPRIDO E CONTROLE. A) APLICAÇÃO DE *Cordyceps fumosorosea* VIA ALIMENTAÇÃO B) APLICAÇÃO DE *Cordyceps fumosorosea* VIA PULVERIZAÇÃO C) ANÁLISE GLOBAL (INDEPENDENTE DO MÉTODO DE APLICAÇÃO). LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p>0,05$)

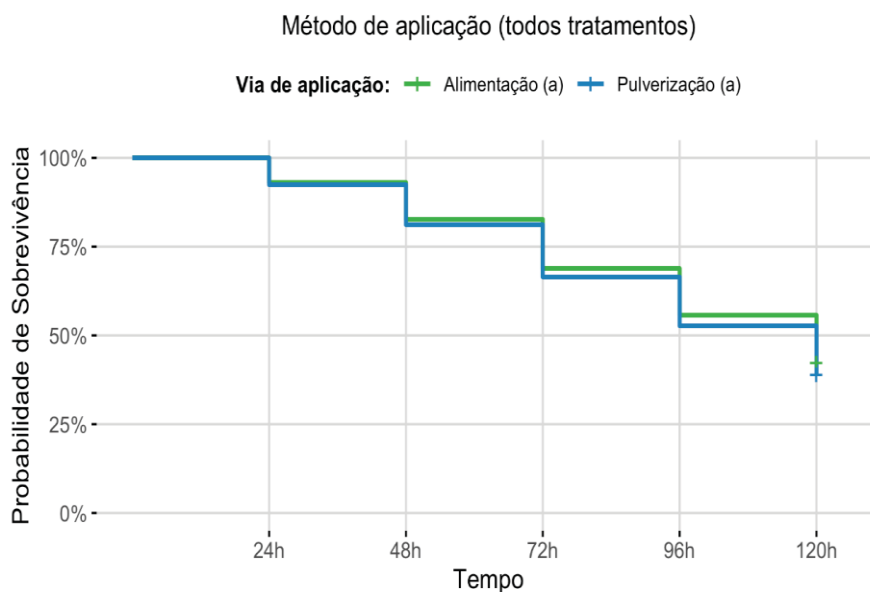


FONTE: A autora (2025).

A exposição a *C. fumosorosea* impactou significativamente a sobrevivência das abelhas independentemente da via de aplicação. Esses resultados indicam uma ação patogênica mais consistente e robusta de *C. fumosorosea* em comparação às demais espécies testadas, afetando a sobrevivência mesmo nas menores concentrações e por ambas as vias de exposição (FIGURA 17C).

No que se refere ao método de aplicação, foram comparados apenas os métodos de aplicação, desconsiderando a estratificação por concentração, uma vez que não foi detectado efeito na forma isolada e nem nas diferentes concentrações (FIGURA 18).

FIGURA 18 – GRÁFICO DE SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera*, POR KAPLAN-MEIER, AJUSTADO AO PERÍODO (HORAS) APÓS A EXPOSIÇÃO A *Cordyceps fumosorosea*, CL₅₀ DE IMIDACLOPRIDO E CONTROLE, ATRAVÉS DA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

5.1.6 Deslocamento vertical de operárias expostas a *Cordyceps fumosorosea*

Apenas o método de aplicação (aplic) apresentou efeito significativo sobre o deslocamento vertical (voo) das operárias analisadas $p < 0,05$ (TABELA 8).

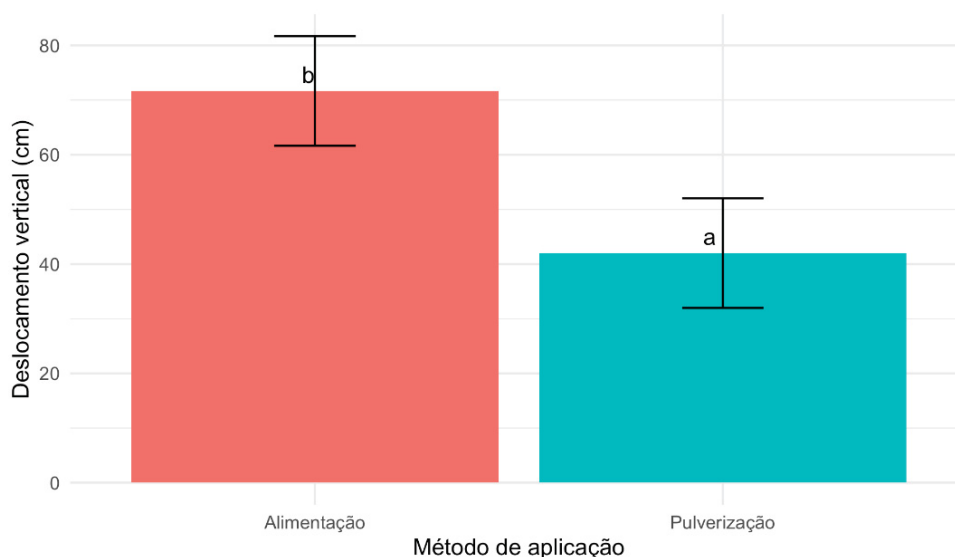
TABELA 8 – TESTE F PARA COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS E CONCENTRAÇÃO APLICADA SOBRE O DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO) EM *Apis mellifera* EXPOSTAS A *Cordyceps fumosorosea*

fonte	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
trat	16.420,64167	5	2,13914	0,06619
aplic	26.373,67500	1	17,17870	0,00007
trat:aplic	5.860,17500	5	0,76341	0,57814
Residuals	165.807,50000	108		

FONTE: A autora (2025).

Notou-se através dos gráficos gerados, clara diferença entre os métodos de exposição. As operárias expostas ao fungo *C. fumosorosea* pelo método de pulverização tiveram sua capacidade de locomoção reduzida, quando comparadas às abelhas expostas ao método de alimentação (FIGURA 19).

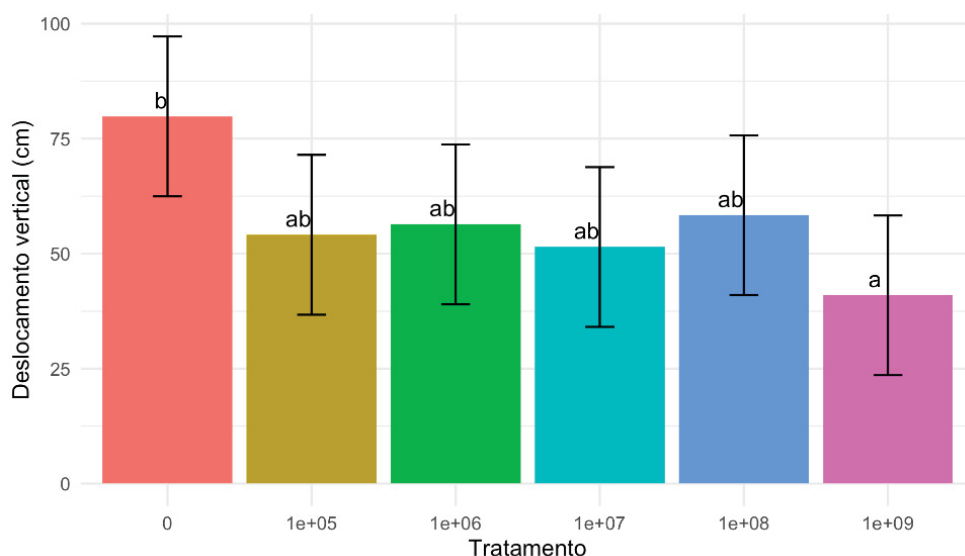
FIGURA 19 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Cordyceps fumosorosea* VIA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS DIFERENTES INDICAM QUE HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

As operárias expostas a maior concentração de *C. fumosorosea* (1×10^9 conídios.mL⁻¹) tiveram redução no deslocamento vertical, quando comparadas ao grupo controle (0 conídios.mL⁻¹) (FIGURA 20).

FIGURA 20 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO VERTICAL) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Cordyceps fumosorosea* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 CONÍDIOS.mL⁻¹) E AO CONTROLE (0). LETRAS IGUAIS ÍNDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

Para os dados de queda livre observou-se que tanto a concentração (trat) quanto o método (aplic) do fungo *C. fumosoroseae* apresentaram efeito sobre o deslocamento vertical ($p < 0,05$) das operárias expostas ao fungo ($p < 0,05$) (TABELA 9).

TABELA 9 – TESTE F PARA COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DOS TRATAMENTOS E CONCENTRAÇÃO APLICADA SOBRE O DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) EM *Apis mellifera* EXPOSTAS A *Cordyceps fumosorosea*

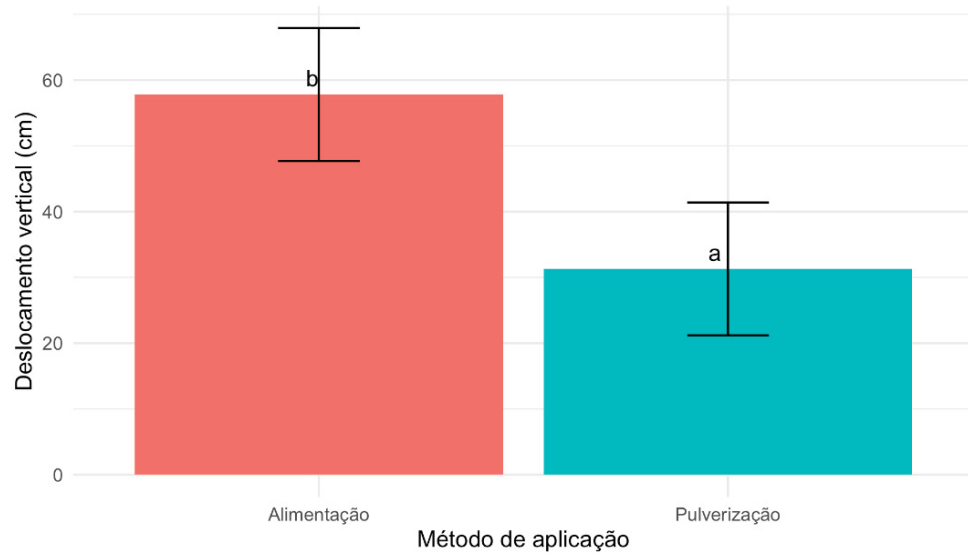
fonte	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
trat	20.273,54167	5	2,60024	0,02918
aplic	21.094,00833	1	13,52733	0,00037
trat:aplic	6.211,14167	5	0,79663	0,55442
Residuals	168.411,10000	108		

FONTE: A autora (2025).

Assim como verificado para os dados de voo, houve uma clara diferença entre os métodos de aplicação de *C. fumosorosea* em operárias de *A. mellifera* para

os dados de queda livre (FIGURA 21). Notou-se que as operárias expostas pelo método de pulverização apresentaram redução na capacidade de retornar a luz.

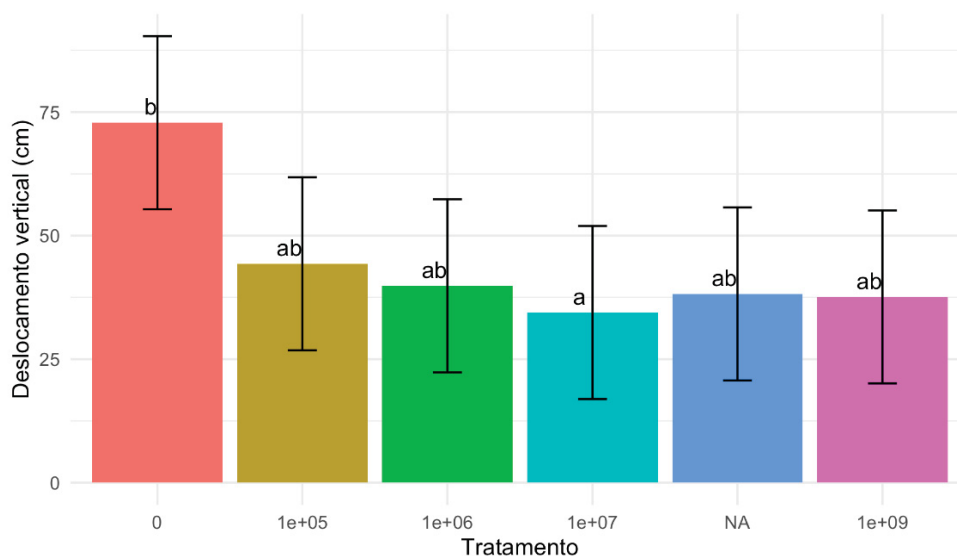
FIGURA 21 – DESLOCAMENTO VERTICAL (QUEDA LIVRE) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Cordyceps fumosorosea* VIA ALIMENTAÇÃO E PULVERIZAÇÃO. LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p > 0,05$)



FONTE: A autora (2025).

No entanto, apenas as abelhas expostas a concentração intermediária de *C. fumosorosea* (1×10^7 conídios.mL⁻¹) apresentaram redução significativa em resposta a luz, quando comparado ao controle (0 conídios.mL⁻¹) (FIGURA 22).

FIGURA 22 – DESLOCAMENTO VERTICAL (VOO VERTICAL) DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* APÓS EXPOSIÇÃO A *Cordyceps fumosorosea* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 CONÍDIOS.mL⁻¹) E AO CONTROLE (0). LETRAS IGUAIS INDICAM QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p < 0,05$)

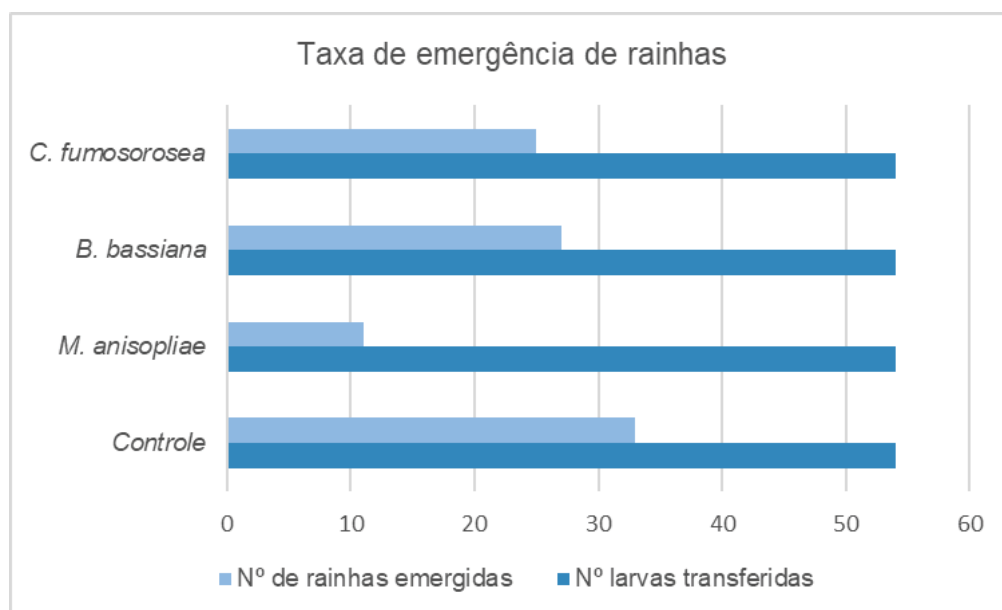


FONTE: A autora (2025).

5.2 INTERFERÊNCIA DOS AGENTES EM RAINHAS DE *Apis mellifera*

Quando avaliado o percentual de aceitação/rainhas emergidas, verifica-se que a aceitação das larvas do grupo controle (alimentadas com geleia real apenas) foi superior a 60%, sendo maior que nos tratamentos contendo fungos (FIGURA 23). Para as larvas alimentadas com *B. bassiana* (1×10^8 conídios.mL⁻¹) a taxa de emergência de rainhas foi de 50%, para o tratamento utilizando *C. fumosorosea* (1×10^8 conídios.mL⁻¹) aproximadamente 46%, enquanto no tratamento contendo *M. anisopliae* (1×10^8 conídios.mL⁻¹) verificou-se acentuada redução na emergência de rainhas, sendo de apenas 20%.

FIGURA 23 – TAXA DE EMERGÊNCIA DE RAINHAS DE *Apis mellifera* PRODUZIDAS SOB INGESTÃO DE GELEIA REAL INCORPORADA COM *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* E *Cordyceps fumosorosea* NA CONCENTRAÇÃO DE 1×10^8 CONÍDIOS.mL⁻¹ E GELEIA REAL PURA (CONTROLE).



FONTE: A autora (2025).

Ao realizar a análise de Kruskal-Wallis para as avaliações relacionadas a morfometria das rainhas alimentadas com geleia real com os fungos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *C. fumosorosea* na concentração de 1×10^8 conídios.mL⁻¹, nota-se que para a maioria das variáveis analisadas, não houve diferença entre tratamentos, quando comparados ao controle com geleia real pura (Tabela 10). Apenas para as variáveis largura do abdômen, comprimento e largura do tórax houve diferença estatística entre os tratamentos e, com isso, foi realizada a comparação de médias de Dunn (TABELA 10).

TABELA 10 – MÉDIAS DOS PARÂMETROS ANALISADOS APÓS A EMERGÊNCIA DE RAINHAS DE *Apis mellifera* PRODUZIDAS SOB INGESTÃO DE GELEIA REAL INCORPORADA COM *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* E *Cordyceps fumosorosea* NA CONCENTRAÇÃO DE 1×10^8 CONÍDIOS.mL⁻¹ E GELEIA REAL PURA (CONTROLE). *INDICA QUE NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA. LETRAS DIFERENTES INDICAM QUE HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($p < 0,05$).

	Controle	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Cordyceps fumosorosea</i>	<i>p</i>
Peso (mg)	201,8 ± 0.04*	197,80 ± 0.03*	193,00 ± 0.03*	200,10 ± 0.03*	0,8066
Comprimento total (mm)	17,99 ± 1.34*	17,61 ± 1,57*	17,67 ± 1.08*	17,76 ± 2,47*	0,2639
Comprimento do abdome (mm)	10,99 ± 1,12*	10,85 ± 1,59*	11,01 ± 1,13*	11,07 ± 1,39*	0,9957
Largura do abdome (mm)	4,09 ± 0,64 ab	4,17 ± 0,41 a	3,77 ± 0,38 b	4,23 ± 0,63 a	0,0069
Comprimento do tórax (mm)	4,32 ± 0,61 a	4,17 ± 0,67 ab	3,87 ± 0,46 b	4,10 ± 0,56 ab	0,0421
Largura do tórax (mm)	3,80 ± 0.63 a	3,98 ± 0.77 ab	3,48 ± 0.52 b	3,91 ± 0.49 a	0,0101
Comprimento da asa (mm)	9,62 ± 1,32*	10,02 ± 0,76*	9,40 ± 0,64*	9,81 ± 0,87*	0,178
Largura da asa (mm)	3,33 ± 0,35*	3,46 ± 0,21*	3,30 ± 0,23*	3,35 ± 0,30*	0,3628

FONTE: A autora (2025).

As rainhas recém emergidas, que foram alimentadas no período larval com *M. anisopliae* e *C. fumosorosea* apresentaram incremento na largura do abdome (4,17 mm e 4,23 mm, respectivamente) quando comparadas às rainhas alimentadas com *B. bassiana* (3,77 mm). No entanto, em ambos os casos, não houve diferença quando comparadas às rainhas provenientes do grupo controle (4,09 mm). Nota-se também que as rainhas alimentadas no período larval com *B. bassiana* apresentaram redução no comprimento tórax (3,87 mm) e na largura do tórax (3,48 mm), em relação ao mesmo parâmetro das rainhas do grupo controle (4,32 e 3,80, respectivamente).

6 DISCUSSÃO

Os fungos entomopatogênicos provocam diferentes efeitos sobre a sobrevivência e comportamento locomotor de operárias de *A. mellifera*. No entanto, as alterações causadas dependem do agente utilizado, do método pelo qual as abelhas foram expostas e da concentração aplicada.

Nota-se claramente que o método de exposição aos fungos causou impacto distinto na resposta das operárias de *A. mellifera*. De maneira geral, a pulverização foi mais deletéria à sobrevivência das operárias em comparação à via de alimentação, especialmente no caso do fungo *M. anisopliae*, cuja aplicação por pulverização resultou em uma taxa de mortalidade significativamente maior. Esse fato está relacionado ao modo de ação destes fungos, uma vez que os conídios precisam entrar em contato com a cutícula do hospedeiro para que ocorra a germinação e assim, as hifas consigam penetrar no corpo do inseto (ALVES, 1998b; POTRICH et al., 2022; SOSA-GÓMEZ; ALESSANDRO, 2019; WANG; WANG, 2017). Embora tenham entrado em contato com o aparelho bucal das operárias, as abelhas possuem em seu sistema imunológico inato, um mecanismo de encapsulamento de materiais estranhos, os quais protegem da ação de microrganismos. Através dos hemócitos ocorre a identificação do microrganismo e com isso, as células formam uma cápsula, isolando-o e impedindo que ele se espalhe, através da melanização. Após isso, ocorre a degradação ou a eliminação através de excretas do microrganismo encapsulado (DEGRANDI-HOFFMAN; CHEN, 2015; MOTTA; MORAN, 2024).

Além da redução da sobrevivência, observou-se que *M. anisopliae* pode interferir no deslocamento vertical das operárias expostas por pulverização. Esse comportamento pode estar relacionado a principal toxina produzida por este fungo, denominada destruxina. A toxina apresenta pelo menos 28 variantes conhecidas, que atuam diretamente no sistema nervoso do inseto, provocando a entrada de cálcio nas células, o que leva à despolarização neural e à interrupção dos processos normais de fagocitose. Além disso, a destruxina também impede a polimerização da actina, uma proteína fundamental para a integridade e funcionamento adequado do citoesqueleto dos insetos (ISLAM et al., 2021)

Os resultados obtidos contrapõem aos observados por Libardoni et al. (2023), que verificaram que as operárias, após 24 horas de contato em superfície

vítrea com *M. anisopliae*, não tiveram sua capacidade de locomoção alterada. A diferença pode ser pelo tempo de exposição ao fungo, uma vez que, após 24 horas, as toxinas podem não ter sido produzidas (WANG et al., 2012) e, por isso, não houve alteração nesta variável. Além disso, o modo em que a exposição ao fungo ocorreu, assim como a concentração e a cepa utilizada, também podem ter contribuído para a discrepância.

O fungo *B. bassiana* possui modo de ação semelhante ao de *M. anisopliae*, o que justifica a redução na sobrevivência das operárias expostas através da pulverização. Neste sentido, os esporos de *B. bassiana* iniciam a infecção nas membranas intersegmentares do abdômen do inseto e, durante a colonização, produzem toxinas, tais como beauvericina, bassianina, bassianolida (ISLAM et al., 2021; ZIMMERMANN, 2007).

A beauvericina é responsável por interferir na condução dos impulsos nervosos, enquanto a beauveraloide exerce efeitos sobre o sistema neuromuscular e bloqueia a produção de quitina. Já a brassinoloide afeta diretamente o sistema imunológico do inseto, enfraquecendo suas defesas naturais. Assim, essas toxinas tornam-se essenciais na infecção dos insetos, pois facilitam a invasão do fungo, suprimem as respostas imunes do hospedeiro, contribuindo assim, para morte dos insetos em geral (ISLAM et al., 2021; WANG; ST. LEGER; WANG, 2016). Nota-se, no entanto, que as toxinas produzidas não foram capazes de interferir na capacidade de deslocamento das operárias de *A. mellifera* sob as condições avaliadas neste estudo.

Cordiceps fumosorosea apresenta maior patogenicidade a *A. mellifera* entre os agentes testados, reduzindo significativamente a sobrevivência das operárias mesmo em menores concentrações e por ambas as vias de exposição. As toxinas deste fungo, porém, ainda são pouco estudadas. Embora algumas moléculas de *C. fumosorosea* tenham sido identificadas recentemente, como a proteína IF28, beauvericina e beauverolídeos (KEPPANAN et al., 2019; WENG et al., 2019), entre outros, ainda não se sabe ao certo se seus mecanismos de ação são semelhantes a *B. bassiana* e *M. anisopliae*, os quais produzem toxinas. As evidências disponíveis indicam que as etapas de penetração, colonização e conidiogênese dos conídios estão associadas a uma maior velocidade na mortalidade dos insetos. No entanto, as informações sobre *C. fumosorosea* ainda são limitadas. Nesse contexto, a

avaliação da seletividade desse agente de controle para *A. mellifera* pode contribuir para uma melhor compreensão de seu modo de ação (LEI et al., 2021).

Embora os fungos tenham apresentado redução na sobrevivência de abelhas, nota-se que o imidacloprido, usado como controle positivo, causou mortalidade total das abelhas em 120h, evidenciando sua alta toxicidade quando comparados aos fungos, cuja ação é geralmente menos letal e mais seletiva. No entanto, a ausência de mortalidade imediata não deve ser interpretada como ausência de risco, uma vez que alterações comportamentais podem levar ao colapso da colônia a longo prazo (ABATI et al., 2023; AMARO; GODINHO, 2012).

Em estudo realizado com operárias recém emergidas de *A. mellifera* expostas a diferentes concentrações de *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *C. fumosorosea*, observou-se que as abelhas do bioensaio de alimentação apresentaram redução significativa na sobrevivência, enquanto as abelhas expostas por aplicação tópica (OECD 214), tiveram a sobrevivência reduzida em menor proporção (LEITE et al., 2022). Estes resultados contrapõem aos obtidos nesta pesquisa, haja vista que os bioensaios de alimentação causaram pouca ou nenhuma interferência na sobrevivência das operárias adultas, nas condições avaliadas.

Esse fato pode ser justificado por alguns motivos, dentre eles: A) idade de exposição das abelhas aos fungos: abelhas jovens são mais susceptíveis, uma vez que a ativação de genes relacionados a imunidade ocorre na sua fase jovem (ALVES et al., 1996; BULL et al., 2012; ESPINOSA-ORTIZ et al., 2011); B) as cepas utilizadas por (LEITE et al., 2022), tiveram melhor capacidade de aderência no aparelho bucal das operárias do que as cepas analisadas nesta pesquisa. Além disso, a menor interferência nas abelhas expostas através do contato tópico pode ter sido ocasionada pelo hábito de higiene das abelhas, chamado de *grooming* (FOOSE et al., 2022; TELLES AMANDIO; FAITA; POLTRONIERI, 2025).

Embora alguns estudos apontem para possíveis efeitos negativos ocasionados por fungos entomopatogênicos sobre operárias de *A. mellifera* (Carlesso et al., 2020; Colombo et al., 2020; Leite et al., 2022; Libardoni et al. 2023; Potrich et al., 2018), cabe ressaltar que na maioria dos estudos são utilizadas concentrações semelhantes ao aplicado no controle de insetos praga no campo (AGROFIT, 2025). Por isso, deve-se levar em consideração que após aplicação em cultivos agrícolas pode ocorrer a perda de viabilidade dos fungos entomopatogênicos pela radiação UV, bem como, por outros fatores ambientais

(FERNANDES et al., 2015; JARONSKI, 2010), o que pode reduzir seu impacto aos polinizadores.

Quando são estudados os efeitos ocasionados por inseticidas químicos sintéticos em abelhas, são utilizadas concentrações determinadas como sendo próximas à realidade encontrada no campo pelas abelhas. Isso parte de estudos anteriores, nos quais são definidas concentrações médias que podem ser encontradas pelas operárias no pólen e no néctar durante o forrageamento (CALATAYUD-VERNICH et al., 2018) devido a perdas pela degradação e volatilização dos produtos. Essas concentrações utilizadas são inferiores às encontradas em bulas comerciais. Ainda assim, mesmo em quantidades mínimas, os inseticidas químicos reduzem a sobrevivência das abelhas, interferem negativamente no seu comportamento e em fatores fisiológicos que podem ocasionar o colapso das colônias (ABATI et al., 2023; BATTISTI et al., 2024; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007b; PALOSCHI et al., 2023; SIAM et al., 2025). Ressalta-se assim, que quando se comparam agentes de controle biológicos com inseticidas químicos, seu impacto aos polinizadores é considerado mínimo.

O fungo *M. anisopliae* reduziu significativamente a produção de rainhas, podendo este fator estar relacionado também à toxina destruxina, descrita anteriormente. No entanto, não foram verificadas alterações morfométricas causadas por esse fungo nas rainhas emergidas, alimentadas no período larval por esse fungo, relação que pode ser genética.

Além do impacto causado na aceitação e emergência, avaliações de morfometria de rainhas de *A. mellifera* permitem avaliar a qualidade reprodutiva, o potencial fisiológico e a eficiência do manejo apícola (AKYOL; YENINAR; KAFTANOGLU, 2008; BIENEFELD; EHRHARDT; REINHARDT, 2007; VAN ENGELSDORP; OTIS, 2000; WOYKE, 1971). Neste sentido, através destas mensurações corporais, é possível avaliar o impacto dos agentes de controle biológicos em rainhas, bem como garantir um bom desempenho da colônia.

O peso e o comprimento não foram alterados em nenhum dos tratamentos, confirmando que estes fungos não interferem na morfometria externa das rainhas avaliadas. Essas variáveis são importantes, uma vez que quanto mais pesada e maior for uma rainha, há maior probabilidade de o número de ovariolos e da espermateca serem maiores, e consequentemente, maior produtividade de indivíduos aumentando a produção de mel (AKYOL; YENINAR; KAFTANOGLU,

2008; BIENEFELD; EHRHARDT; REINHARDT, 2007; FACCHINI et al., 2021; VAN ENGELSDORP; OTIS, 2000; WOYKE, 1971).

Porém, o fungo entomopatogênico *B. bassiana* ocasionou a redução na largura do abdome, o que é fator de interferência na maturidade ovariana e no potencial de oviposição. Além disso, esse mesmo fungo pode interferir no potencial muscular das rainhas, o qual interfere diretamente no voo nupcial, uma vez que reduziu também, o comprimento e largura do tórax Jackson et al. (2011). Estes resultados contrapõem ao verificado por Colombo et al. (2020). Estes autores verificaram que os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* quando incorporados à alimentação não causaram efeitos negativos na aceitação e emergência de rainhas. Com isso, esses fungos também não ocasionaram alterações morfométricas, sendo que, essa discrepância pode ter ocorrido em relação as cepas utilizadas, bem como a concentração de conídios.

Em razão disso, os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* devem ser mais bem estudados e utilizados com cautela quando aplicados diretamente na colônia para o controle de *V. destructor*. Bem como, aprofundar os estudos sobre sua segurança quando utilizados no manejo integrado de pragas, uma vez que em testes de laboratório são utilizadas condições ideais, sem as possíveis interferências ambientais, que podem reduzir ainda mais o impacto destes fungos sobre polinizadores.

Por fim, a comparação entre estudos que avaliam os agentes de controle biológico sobre abelhas apresenta alguns entraves para a comparação de resultados, tais como a ampla variedade de cepas, as concentrações utilizadas e os adjuvantes presentes nos produtos comerciais. Além disso, é necessário que se estabeleça uma padronização nos bioensaios de toxicidade, da mesma forma que existem protocolos de avaliações de riscos ocasionados por produtos químicos sintéticos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os efeitos ocasionados por fungos entomopatogênicos em *A. mellifera* são variáveis e multifatoriais. A casta estudada, a espécie do fungo, a concentração utilizada e o método de aplicação influenciam significativamente a sobrevivência e o comportamento das abelhas.

Dado o papel ecológico das abelhas e sua importância para a agricultura, os resultados obtidos neste trabalho reforçam a necessidade de realizar avaliações ecotoxicológicas criteriosas antes da recomendação de agentes de controle biológico, especialmente no controle de *V. destructor*, cuja aplicação ocorre diretamente na colônia. Além disso, quando utilizados no manejo de pragas agrícolas, embora mais seguros que os agrotóxicos, os fungos entomopatogênicos ainda podem representar risco, especialmente quando aplicados via pulverização e em concentrações elevadas. Para mitigar os possíveis efeitos negativos dos fungos sobre as abelhas, ressalta-se a aplicação dos produtos no horário correto, ou seja, início da manhã ou final da tarde, onde além de beneficiar o fungo aplicado, menor o risco de operárias realizando o forrageamento nos cultivos. Além disso, deve-se evitar aplicação de qualquer produto, seja químico ou biológico, no período de floração. Portanto, é essencial considerar esses aspectos no manejo integrado de pragas, garantindo a sustentabilidade da apicultura e da polinização agrícola.

Sugere-se, por fim, a realização de novos bioensaios com diferentes modos de exposição e formulações; avaliações comportamentais e fisiológicas, tais como, avaliações enzimáticas; ensaios à campo e também com diferentes castas e indivíduos. E, dessa maneira, possam ser traçadas estratégias que possam ser empregadas em cultivos orgânicos e no controle integrado de pragas, a fim de garantir um manejo mais sustentável aos ambientes agrícolas e que garantam a segurança deste polinizador.

REFERÊNCIAS

- A.B.E.L.H.A. **CCD**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://abelha.org.br/ccd/>>.
- ABATI, R. et al. Bees and pesticides: the research impact and scientometrics relations. **Environmental Science and Pollution Research**, v. Online, p. 1–17, 2021.
- ABATI, R. et al. Residual effect of imidacloprid and beta-cyfluthrin on Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers. **Apidologie**, v. 54, n. 3, p. 26, 17 jun. 2023.
- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 7 fev. 2025.
- AIZEN, M. A.; HARDER, L. D. The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. **Current Biology**, v. 19, n. 11, p. 915–918, 2009.
- AKYOL, E.; YENINAR, H.; KAFTANOGLU, O. Live Weight of Queen Honey Bees (*Apis Mellifera* L.) Predicts Reproductive Characteristics. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 81, n. 2, p. 92–100, 2008.
- ALAU, C. et al. Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters**, v. 6, n. 4, p. 562–565, 2010.
- ALVES, S. B. et al. Effects of some insect pathogens on the Africanized honey bee, *Apis mellifera* L. (Hym., Apidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 120, n. 1–5, p. 559–564, 12 jan. 1996.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998a. v. 4
- ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: Piracicaba: FEALQ, 1998b.
- AMARO, P.; GODINHO, J. Pesticidas e abelhas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 53–62, 2012.
- AMIRI, E. et al. Chronic Bee Paralysis Virus in Honeybee Queens: Evaluating Susceptibility and Infection Routes. **Viruses**, v. 6, n. 3, p. 1188–1201, 11 mar. 2014.
- ARONSTEIN, K. A.; MURRAY, K. D. Chalkbrood disease in honey bees. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S20–S29, jan. 2010.
- AZZAMI, K. et al. Infection of honey bees with acute bee paralysis virus does not trigger humoral or cellular immune responses. **Archives of Virology**, v. 157, n. 4, p. 689–702, 19 abr. 2012.
- BACANDRITSOS, N.; ROINIOTI, E.; PAPANASTASIOU, I. The important honey bee

viruses: A short descriptive review enhanced with recent data. **Bees: Biology, Threats and Colonies**, n. February, p. 169–188, 2012.

BAILEY, L.; GIBBS, A. J.; WOODS, R. D. The Purification and Properties of Chronic Bee-paralysis Virus. **Journal of General Virology**, v. 2, n. 2, p. 251–260, 1 mar. 1968.

BALBUENA, S. et al. Effect of Chronic Exposure to Sublethal Doses of Imidacloprid and *Nosema ceranae* on Immunity, Gut Microbiota, and Survival of Africanized Honey Bees. **Microbial Ecology**, v. 85, n. 4, p. 1485–1497, 23 maio 2023.

BAPTISTA, A. P. M. et al. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 955–961, 3 abr. 2009.

BARGAŃSKA, Ż.; ŚLEBIODA, M.; NAMIEŚNIK, J. Honey bees and their products - bioindicators of environmental contamination. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 3, p. 235–248, 2015.

BATTISTI, L. et al. Is glyphosate toxic to bees ? A meta-analytical review. **Science of the Total Environment**, v. 767, p. 1–11, 2021.

BATTISTI, L. et al. Toxicity of glyphosate herbicides formulated for Africanized *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 287, p. 117247, nov. 2024.

BAVA, R. et al. Antimicrobial Properties of Hive Products and Their Potential Applications in Human and Veterinary Medicine. **Antibiotics**, v. 14, n. 2, p. 1–37, 2025.

BEAUREPAIRE, A. et al. Diversity and Global Distribution of Viruses of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. **Insects**, v. 11, n. 4, p. 239, 10 abr. 2020.

BIENEFELD, K.; EHRHARDT, K.; REINHARDT, F. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects – A BLUP-Animal Model approach. **Apidologie**, v. 38, n. 1, p. 77–85, 15 jan. 2007.

BLANCHARD, P. et al. Development and validation of a real-time two-step RT-qPCR TaqMan® assay for quantitation of Sacbrood virus (SBV) and its application to a field survey of symptomatic honey bee colonies. **Journal of Virological Methods**, v. 197, p. 7–13, mar. 2014.

BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 278–294, 2010.

BROSI, B. J. et al. Ecological and evolutionary approaches to managing honeybee disease. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, n. 9, p. 1250–1262, 2017.

BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. **Nature**, v. 529, n. 7586, p. 336–343, 2016.

BULL, J. C. et al. A Strong Immune Response in Young Adult Honeybees Masks Their Increased Susceptibility to Infection Compared to Older Bees. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 12, p. e1003083, 27 dez. 2012.

CALATAYUD-VERNICH, P. et al. Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. **Environmental Pollution**, v. 241, p. 106–114, 2018.

CALDERONE, N. W. Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: Trend analysis of aggregate data for the period 1992-2009. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. 24–28, 2012.

CALVETE, E. O. et al. Polinização de morangueiro por *Apis mellifera* em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 181–188, 26 fev. 2010.

CARLESSO, D. et al. Exposure to a biopesticide interferes with sucrose responsiveness and learning in honey bees. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 19929, 16 dez. 2020.

CASTILHOS, D. et al. Varroa destructor infestation levels in Africanized honey bee colonies in Brazil from 1977 when first detected to 2020. **Apidologie**, v. 54, n. 1, 2023.

CATAE, A. F. et al. Exposure to a sublethal concentration of imidacloprid and the side effects on target and nontarget organs of *Apis mellifera*. **Ecotoxicology**, v. 27, p. 109–121, 2018.

CATALANO, P. et al. Use of Honey Bees and Hive Products as Bioindicators to Assess Environmental Contamination in Targeted Areas of the Campania Region (Italy). **Animals**, v. 14, n. 10, 2024.

CELLI, G.; MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 1–3, 2003.

CHAGAS, D. B. et al. Black queen cell virus and Nosema ceranae coinfection in Africanized honey bees from southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 892–897, nov. 2020.

CHARRETON, M. et al. A locomotor deficit induced by sublethal doses of pyrethroid and neonicotinoid insecticides in the honeybee *Apis mellifera*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, p. 1–14, 2015.

CHEN, Y.; EVANS, J.; FELDLAUFER, M. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 92, n. 3, p. 152–159, jul. 2006.

CHIARI, W. C. et al. Pollination by *Apis mellifera* in transgenic soy (*Glycine max* (L.) Merrill) Roundup Ready™ cv. BRS 245 RR and conventional cv. BRS 133. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 267–271, 2008.

COBRA, S. S. DE O. et al. Características florais e polinizadores na qualidade de frutos de cultivares de maracujazeiro-azedo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 1, p. 54–62, jan. 2015.

COLOMBO, F. C. et al. Do *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* affect worker survival and the production of Africanized *Apis mellifera* queens? **Journal of Apicultural Research**, p. 1–10, 14 out. 2020.

COSTA-MAIA, F. M.; LOURENCO, D. A. L.; TOLEDO, V. D. A. A. DE. Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. n. October, 2010.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. Joboticabal: Funep, 2006.

CREMER, S.; ARMITAGE, S. A. O.; SCHMID-HEMPEL, P. Social Immunity. **Current Biology**, v. 17, n. 16, p. 693–702, 2007.

DE GRAAF, D. C. et al. Diagnosis of American foulbrood in honey bees: a synthesis and proposed analytical protocols. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 583–590, dez. 2006.

DE MIRANDA, J. R.; CORDONI, G.; BUDGE, G. The Acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S30–S47, jan. 2010.

DE MIRANDA, J. R.; GENERSCH, E. Deformed wing virus. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S48–S61, jan. 2010.

DEGRANDI-HOFFMAN, G.; CHEN, Y. Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. **Current Opinion in Insect Science**, v. 10, p. 170–176, ago. 2015.

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, 2007a.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. 2007b.

DI PASQUALE, G. et al. Influence of Pollen Nutrition on Honey Bee Health: Do Pollen Quality and Diversity Matter? **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. 1–13, 2013.

DJUKIC, M. et al. How to Kill the Honey Bee Larva: Genomic Potential and Virulence Mechanisms of *Paenibacillus* larvae. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e90914, 5 mar. 2014.

DOLEZAL, A. G.; TOTH, A. L. Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 114–119, abr. 2018.

DOUBLET, V. et al. Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. **Environmental Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 969–983, 11 abr. 2015.

ERLER, S.; MORITZ, R. F. A. Pharmacophagy and pharmacophory: mechanisms of self-medication and disease prevention in the honeybee colony (*Apis mellifera*). **Apidologie**, v. 47, n. 3, p. 389–411, 2016.

ESPINOSA-ORTIZ, G. E. et al. Susceptibility of larval, pupal and adult honey bees to isolates of *Beauveria bassiana* (bals) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Sorokin) AND *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize). **Interciencia**, v. 36, n. 2, p. 148–152, 2011.

EVANS, J. D. et al. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n. 5, p. 645–656, 2006.

EVANS, J. D.; SCHWARZ, R. S. Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 12, p. 614–620, dez. 2011.

FACCHINI, E. et al. Investigating Genetic and Phenotypic Variability of Queen Bees: Morphological and Reproductive Traits. **Animals**, v. 11, n. 11, p. 3054, 26 out. 2021.

FERNANDES, É. K. K. et al. Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. **Current Genetics**, v. 61, n. 3, p. 427–440, 19 ago. 2015.

FERNANDEZ FERRARI, M. C. et al. Application of *Metarhizium anisopliae* as a potential biological control of *Varroa destructor* in Italy. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 4, p. 528–538, 7 ago. 2020.

FOOSE, A. M. et al. The survival consequences of grooming in the honey bee *Apis mellifera*. **Insectes Sociaux**, v. 69, n. 2–3, p. 279–287, 1 jul. 2022.

FORSGREN, E. European foulbrood in honey bees. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S5–S9, jan. 2010.

FORSGREN, E. et al. Standard methods for European foulbrood research. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 1, p. 1–14, 2 jan. 2013.

FREITAS, B. M.; SILVA, C. I. DA. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil. In: **Agricultura e Polinizadores**. São Paulo: Associação Brasileira de Estudos das Abelhas - A.B.E.L.H.A., 2015.

FRIES, I. Nosema ceranae in European honey bees (*Apis mellifera*). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S73–S79, jan. 2010.

FÜNFHAUS, A.; EBELING, J.; GENERSCH, E. Bacterial pathogens of bees. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 89–96, abr. 2018.

GALAJDA, R. et al. Nosema Disease of European Honey Bees. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 9, p. 714, 30 ago. 2021.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GENERSCH, E. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 1, p. 87–97, 17

jun. 2010.

GENERSCH, E.; ASHIRALIEVA, A.; FRIES, I. Strain- and Genotype-Specific Differences in Virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a Bacterial Pathogen Causing American Foulbrood Disease in Honeybees. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 11, p. 7551–7555, nov. 2005.

GIANNINI, T. C. et al. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015.

GOBLIRSCH, M. *Nosema ceranae* disease of the honey bee (*Apis mellifera*). **Apidologie**, v. 49, n. 1, p. 131–150, 11 fev. 2018.

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

GRASSL, J. et al. Synergistic effects of pathogen and pesticide exposure on honey bee (*Apis mellifera*) survival and immunity. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 159, p. 78–86, nov. 2018.

GRIGORI, P. **Apicultores brasileiros encontram meio bilhão de abelhas mortas em três meses.** [s.l: s.n.].

GRUPE, A. C.; QUANDT, C. A. A growing pandemic: A review of *Nosema* parasites in globally distributed domesticated and native bees. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 6, p. e1008580, 18 jun. 2020.

HABER, A. I.; STEINHAUER, N. A.; VANENGELSDORP, D. Use of Chemical and Nonchemical Methods for the Control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and Associated Winter Colony Losses in U.S. Beekeeping Operations. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 4, p. 1509–1525, 3 ago. 2019.

HAMIDUZZAMAN, M. M. et al. Entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents of the ecto-parasitic mite, *Varroa destructor*, and their effect on the immune response of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, n. 3, p. 237–243, nov. 2012.

HUBBARD, C. B.; MURILLO, A. C. Behavioral resistance to insecticides: current understanding, challenges, and future directions. **Current Opinion in Insect Science**, v. 63, p. 101177, 2024.

HUNG, K.-L. J. et al. The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 285, n. 1870, p. 20172140, 2018.

IBGE. **Produção de mel de abelha.** Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/mel-de-abelha/br>>. Acesso em: 13 nov. 2023.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. et al. **Polinizadores no Brasil: Contribuição e Perspectivas para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais**. [s.l: s.n.].

IPBES. **The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production**. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo (eds). [s.l: s.n.].

ISLAM, W. et al. Insect-fungal-interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests. **Microbial Pathogenesis**, v. 159, p. 105122, 2021.

JARONSKI, S. T. Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. **BioControl**, v. 55, n. 1, p. 159–185, 24 fev. 2010.

JENSEN, A. B. et al. Standard methods for fungal brood disease research. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 1, p. 1–20, 2 jan. 2013.

KANGA, L. H. B. et al. Development of a user-friendly delivery method for the fungus *Metarhizium anisopliae* to control the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in honey bee, *Apis mellifera*, colonies. **Experimental and Applied Acarology**, v. 52, n. 4, p. 327–342, 30 dez. 2010.

KAPLAN, J. K. Colony Collapse Disorder: An Incomplete Puzzle. **Agricultural Research Magazine**, v. 60, n. 6, p. 1–5, 2012.

KENNA, D. et al. Pesticide exposure affects flight dynamics and reduces flight endurance in bumblebees. **Ecology and Evolution**, v. 9, n. 10, p. 5637–5650, 2019.

KEPPANAN, R. et al. Synthesis of mycotoxin protein IF8 by the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* and its toxic effect against adult *Diaphorina citri*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 1203–1211, mar. 2019.

KEVAN, P. G. et al. A Summary of the Varroa-Virus Disease Complex in Honey Bees. **American Bee Journal**, p. 694–697, 2006.

KINOSHITA, L. S. et al. Composição florística e síndromes de polinização e de dispersão da mata do Sítio São Francisco, Campinas, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 313–327, 2006.

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.

KNISS, A. R. et al. Honeybee toxicity of pesticides used in United States maize and soybean production, 1998–2020. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 21, n. 3, p. 604–613, 1 maio 2025.

KULHANEK, K. et al. A national survey of managed honey bee 2015 – 2016 annual colony losses in the USA. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 4, p. 328–340, 2017.

LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1–41, nov. 2015.

LEAT, N. et al. Analysis of the complete genome sequence of black queen-cell virus, a picorna-like virus of honey bees. **Journal of General Virology**, v. 81, n. 8, p. 2111–2119, 1 ago. 2000.

LECLERCQ, G.; GENGLER, N.; FRANCIS, F. How human reshaped diversity in honey bees (*Apis mellifera* L.): a review. **Entomologie faunistique - Faunistic Entomology**, n. 2, p. 71, 2018.

LEI, Y. et al. Unraveling the Mode of Action of *Cordyceps fumosorosea*: Potential Biocontrol Agent against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Insects**, v. 12, n. 2, p. 179, 18 fev. 2021.

LEITE, M. O. G. et al. Laboratory Risk Assessment of Three Entomopathogenic Fungi Used for Pest Control toward Social Bee Pollinators. **Microorganisms**, v. 10, n. 9, p. 1800, 7 set. 2022.

LI, Q. et al. Physical, Chemical, Biological, and Synergistic Technologies for Remediation of Pesticide-Contaminated Soil. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 262, n. 1, p. 7, 6 dez. 2024.

LIBARDONI, G. et al. Selectivity of fungi used in pest control to Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Apicultural Research**, p. 1–9, 8 ago. 2023.

MAP. **Mapeamento De Abelhas Participativo Colmeia Viva**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.colmeiaviva.com.br/RelatorioMAP>>.

MARTIN, S. J.; BRETTELL, L. E. Deformed Wing Virus in Honeybees and Other Insects. **Annual Review of Virology**, v. 6, n. June, p. 49–69, 2019.

MCMENAMIN, A. J.; GENERSCH, E. Honey bee colony losses and associated viruses. **Current Opinion in Insect Science**, v. 8, p. 121–129, abr. 2015.

MEIKLE, W. G. et al. Effects of multiple applications of a *Beauveria* based biopesticide on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) densities in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. **Journal of Apicultural Research**, v. 48, n. 3, p. 220–222, 2 jan. 2009.

MIRANDA, J. R. et al. Standard methods for virus research in *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1–56, 2 jan. 2013.

MOTTA, E. V. S.; MORAN, N. A. The honeybee microbiota and its impact on health and disease. **Nature Reviews Microbiology**, v. 22, n. 3, p. 122–137, 4 mar. 2024.

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.

NAZZI, F.; LE CONTE, Y. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. **Annual Review of Entomology**, v. 61, n. 1, p. 417–432, 11 mar. 2016.

NRCS. **Using Farm Bill Programs for Pollinator Conservation**. Washington: [s.n.].

O'NEAL, S. T.; ANDERSON, T. D.; WU-SMART, J. Y. Interactions between pesticides and pathogen susceptibility in honey bees. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 57–62, abr. 2018.

OLIVEIRA, J. E. M. DE; NICODEMO, D.; OLIVEIRA, F. F. DE. Contribuição da polinização entomófila para a produção de frutos de aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 1, p. 56–65, mar. 2015.

PALOSCHI, C. L. et al. Imidacloprid: Impact on Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers and honey contamination. **Chemosphere**, v. 338, p. 139591, out. 2023.

PARIS, L. et al. Effects of the gut parasite *Nosema ceranae* on honey bee physiology and behavior. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 149–154, abr. 2018.

PAŞCA, C. et al. A Review of *Nosema ceranae* and *Nosema apis*: Characterization and Impact for Beekeeping. **Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies**, v. 76, n. 2, p. 77–87, 2019.

PEIXOTO, C. M. et al. Occurrence of pathogenic viruses in Africanized honey bees in Brazil. **Journal of Apicultural Research**, p. 1–8, 19 ago. 2021.

PETTIS, J. S. et al. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. **Naturwissenschaften**, v. 99, n. 2, p. 153–158, 2012.

PINTO, B. G. S. et al. Occupational exposure to pesticides: Genetic danger to farmworkers and manufacturing workers – A meta-analytical review. **Science of the Total Environment**, v. 748, p. 141382, 2020.

PIRES, C. S. S. et al. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil : há casos de CCD ? **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422–442, 2016.

PIRK, C. W. W. et al. A survey of managed honey bee colony losses in the Republic of South Africa - 2009 to 2011. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 1, p. 35–42, 2014.

POHORECKA, K. et al. The exposure of honey bees to pesticide residues in the hive environment with regard to winter colony losses. **Journal of Apicultural Science**, v. 61, n. 1, p. 105–125, 2017.

POTRICH, M. et al. Effect of entomopathogens on Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 1, p. 23–28, jan. 2018.

POTRICH, M. et al. Control agents on the quality of Africanized honeybee queens. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 5, p. 1773–1762, 17 jun. 2020.

POTRICH, M. et al. Manejo de pragas com fungos entomopatogênicos. In: MEYER, M. C. et al. (Eds.). **Bioinsumos na cultura da soja**. 1 ed ed. Brasília, DF: Embrapa, 2022. p. 401.

POTTS, S. G. et al. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010.

POTTS, S. G. et al. **Status and Trends of European Pollinators**. [s.l: s.n.].

POTTS, S. G. **Status and trends of European pollinators: Key findings of the STEP project**. Sofia, Bulgaria: Pensoft, 2015.

QUIGLEY, T. P.; AMDAM, G. V.; HARWOOD, G. H. Honey bees as bioindicators of changing global agricultural landscapes. **Current Opinion in Insect Science**, v. 35, p. 132–137, 2019.

RAMOS, J. M.; CARVALHO, N. C. DE. Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 6, n. 10, p. 1–21, 2007.

ROSA, A. DE S.; BLOCHTEIN, B.; LIMA, D. K. Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 2, p. 255–259, abr. 2011.

RUCKER, R.; THURMAN, W. Colony Collapse Disorder: The Market Response to the Bee Disease. **PERC Policy Series**, n. PS-50, p. 1–31, 2012.

SALOMÃO, A. **Agrotóxico banido na união europeia dizima abelhas no Brasil**. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/ambiente/2023/10/agrotoxico-banido-na-uniao-europeia-dizima-abelhas-no-brasil.shtml>>. Acesso em: 1 nov. 2023.

SÁNCHEZ-BAYO, F. et al. Are bee diseases linked to pesticides? - A brief review. **Environment International**, v. 89–90, p. 7–11, 2016.

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

SIAM, M. A. H. et al. Sublethal effects of agricultural insecticides on honey bee behavior and colony sustainability: a review. **Journal of Apicultural Research**, p. 1–10, 17 mar. 2025.

SIHAG, R. C. Pollination, pollinators and pollination modes: ecological and economic importance. In: **The pollination of cultivated plants: a compendium for practitioners**. Roma: Food and Agriculture Organization of The United Nations

(FAO), 2018.

SINGH, N. S. et al. Pesticide Contamination and Human Health Risk Factor. In: **Modern Age Environmental Problems and their Remediation**. [s.l.] Springer, 2017.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: **Soja Manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga**. Londrina: Embrapa Soja, 2012.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; ALESSANDRO, C. P. D. Hongos entomopatógenos del phylum ascomycota. In: LASTRA, C. C. L.; LECUONA, R. E. (Eds.). **Micopatología de artrópodos**. 1 ed ed. Buenos Aires: INTA Ediciones, 2019. p. 233.

SPIILTOIR, C. F. Life Cycle of *Ascosphaera apis* (Pericystis apis). **American Journal of Botany**, v. 42, n. 6, p. 501, jun. 1955.

SPURNY, R. et al. Virion Structure of Black Queen Cell Virus, a Common Honeybee Pathogen. **Journal of Virology**, v. 91, n. 6, 15 mar. 2017.

STARKS, P. T.; BLACKIE, C. A.; SEELEY, T. D. Fever in honeybee colonies. **Naturwissenschaften**, v. 87, n. 5, p. 229–231, 23 maio 2000.

STEINHAEUER, N. et al. Drivers of colony losses. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 142–148, abr. 2018.

TAUTZ, J. **O Fenômeno das abelhas**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

TELLES AMANDIO, D. T.; FAITA, M. R.; POLTRONIERI, A. S. Effect of commercial bioinsecticides formulated from entomopathogenic fungi on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Apicultural Research**, v. 64, n. 3, p. 879–887, 27 maio 2025.

TOSI, S.; NIEH, J. C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, alters honey bee activity, motor functions, and movement to light. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017.

TRAYNOR, K. S. et al. Varroa destructor: A Complex Parasite, Crippling Honey Bees Worldwide. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 7, p. 592–606, jul. 2020.

VAN ENGELSDORP, D.; OTIS, G. W. Application of a Modified Selection Index for Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1606–1612, 1 dez. 2000.

VAN LENTEREN, J. C. et al. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39–59, 2018.

VANENGELSDORP, D. et al. Colony collapse disorder: A descriptive study. **PLoS ONE**, v. 4, n. 8, 2009.

VANENGELSDORP, D.; MEIXNER, M. D. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. S80–S95, jan. 2010.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. 117–124, 2008.

VOJVODIC, S. et al. Virulence of mixed fungal infections in honey bee brood. **Frontiers in Zoology**, v. 9, n. 1, p. 5, 2012.

WANG, B. et al. Unveiling the biosynthetic puzzle of destruxins in *Metarhizium* species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 4, p. 1287–1292, 24 jan. 2012.

WANG, C.; WANG, S. Insect Pathogenic Fungi: Genomics, Molecular Interactions, and Genetic Improvements. **Annual Review of Entomology**, v. 62, n. January, p. 73–90, 2017.

WANG, J. B.; ST. LEGER, R. J.; WANG, C. Advances in Genomics of Entomopathogenic Fungi. In: [s.l: s.n.]. p. 67–105.

WATSON, K.; STALLINS, J. A. Honey Bees and Colony Collapse Disorder: A Pluralistic Reframing. **Geography Compass**, v. 10, n. 5, p. 222–236, maio 2016.

WENG, Q. et al. Secondary Metabolites and the Risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. **Molecules**, v. 24, n. 4, p. 664, 13 fev. 2019.

WILLIAMS, G. R. et al. Does fumagillin control the recently detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 99, n. 3, p. 342–344, nov. 2008.

WINFREE, R.; GROSS, B. J.; KREMEN, C. Valuing pollination services to agriculture. **Ecological Economics**, v. 71, n. 1, p. 80–88, 2011.

WOYKE, J. Correlations Between the Age at Which Honeybee Brood was Grafted, Characteristics of the Resultant Queens, and Results of Insemination. **Journal of Apicultural Research**, v. 10, n. 1, p. 45–55, 24 jan. 1971.

XIA, B. et al. From Water to Water: Insight into the Translocation of Pesticides from Plant Rhizosphere Solution to Leaf Guttation and the Associated Ecological Risks. **Environmental Science & Technology**, v. 58, n. 17, p. 7600–7608, 30 abr. 2024.

YUE, C. et al. Vertical-transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*). **Journal of General Virology**, v. 88, n. 8, p. 2329–2336, 1 ago. 2007.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 5/6, p. 553–596, 2007.