

Lívia Maria Negrini Ferreira

a. Título do projeto: Atratividade e toxicidade da interação entre agroquímicos a abelhas silvestres: subsídios para a conservação de polinizadores

b. Tipo de bolsa solicitada: Mestrado

c. Universidade Federal de Viçosa/Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ecologia

d. Nome do aluno:

- Lívia Maria Negrini Ferreira, bacharel e licenciada em Ciências Biológicas;

- <http://lattes.cnpq.br/0096451406796863>;

- Departamento de Biologia Geral, Edifício Chotaro Shimoya, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900;

e. Orientador do projeto:

- Maria Augusta Lima Siqueira, Doutora em Entomologia, Professora Associada, docente do Ensino Superior da Universidade Federal de Viçosa;

- <http://lattes.cnpq.br/6063278323823908>;

- Departamento de Biologia Animal, Edifício Anexo do CCB II, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900;

f. Detalhamento do projeto:

• Introdução e Justificativa;

A conservação de ecossistemas terrestres depende, em grande parte, da conservação de polinizadores. A perda de insetos polinizadores pode levar a perda das plantas que dependem desses animais (Biesmeijer *et al.*, 2006; Potts *et al.*, 2010), inclusive culturas de importância econômica. As abelhas são os principais animais polinizadores do Mundo e as espécies silvestres têm particular importância para a conservação de ecossistemas tropicais (Venturieri *et al.*, 2012). Os recentes relatos do declínio global das abelhas têm alarmado conservacionistas, governos e a opinião-pública, em virtude dos prejuízos causados ao ambiente e à produção agrícola devido à redução da polinização (vanEngelsdorp *et al.*, 2009; Koh *et al.*, 2016). Veículos de comunicação em massa e manifestações populares chamam atenção para a gravidade do problema (Briggs, 2019; Nielson, 2019), que já ocasionou, inclusive, escassez de alguns alimentos em países como os EUA. As abelhas estão associadas ao aumento da produtividade agrícola (Milfont *et al.*, 2013; Blaauw & Isaacs, 2014; Garratt *et al.*, 2014) e embora o foco das preocupações sejam as abelhas melíferas (*Apis mellifera*), a perda de abelhas de outras espécies também tem impacto negativo na produtividade agrícola (Ghazoul, 2005).

Os meliponíneos são importantes polinizadores nos neotrópicos, entretanto o conhecimento sobre toxicidade de pesticidas a essas abelhas ainda é escasso (Lima & Rocha, 2012; Lima *et al.*, 2016). A maioria dos estudos utiliza a espécie *A. mellifera* como modelo para estimar os efeitos de pesticidas em abelhas em geral (Lima *et al.*, 2016), mas sabe-se que há diferença de susceptibilidade a pesticidas entre espécies do *Apis* e não-*Apis* (Devillers *et al.*, 2003; Arena & Sgolastra, 2014; Cham *et al.*, 2018). Os meliponíneos, em especial, tendem a ser mais sensíveis que *A. mellifera* (Arena & Sgolastra, 2014) devido a características como pequeno tamanho da colônia, maior tempo de desenvolvimento e provisionamento larval em massa (Arena & Sgolastra, 2014; Lima *et al.*, 2016; Cham *et al.*, 2018); menor tamanho corporal (Arena & Sgolastra, 2014; Roubik, 2014); consumo de pólen fresco e não processado (Cham *et al.*, 2018) e atividade de forrageamento durante todo o ano e por períodos de cerca de 12 horas dia, diferentemente de abelhas de regiões temperadas, o que aumenta a possibilidade de exposição a pesticidas (Roubik, 2014).

As abelhas podem ter contato e coletar pesticidas quando estão forrageando (vanEngelsdorp *et al.*, 2009; Roubik, 2014). Mesmo agroquímicos utilizados em cultivos não visitados pelas abelhas podem ser uma ameaça devido a contaminação de ervas com flores, e outras plantas próximas à plantação, que servem de alimento para as abelhas (Stanley & Preetha, 2016; Rodrigues *et al.*, 2018). Os recursos florais contaminados são transportados para a colônia, onde atingem tanto abelhas adultas quanto larvas (Lima *et al.*, 2016; Stanley & Preetha, 2016). A contaminação do pólen e néctar pode ser direta, por deposição dos resíduos nas flores, ou indireta, devido a ação sistêmica de alguns pesticidas, que são absorvidos pelos tecidos vegetais (Lima & Rocha, 2012; Stoner & Eitzer, 2013; Stanley & Preetha, 2016). Embora novas técnicas reduzam o contato direto da abelha com os pesticidas, esses insetos podem ser expostos por longos períodos de tempo aos pesticidas sistêmicos ou seus metabólitos presentes no pólen, néctar e exsudados vegetais (Johnson *et al.*, 2010). O tratamento de sementes com pesticidas sistêmicos tem se mostrado menos seguro do que o assumido anteriormente, devido aos efeitos de doses subletais incorporadas no pólen e néctar (Stanley & Preetha, 2016).

No Brasil há uma tendência atual a flexibilizar a autorização de agroquímicos, apesar da oposição de agências de saúde e meio ambiente (Vasconcelos, 2019) e relatos de mortalidade de abelhas presentes em apiários próximos a culturas agrícolas onde há aplicação de pesticidas (Lima & Rocha, 2012), indicando o efeito nocivo dessas substâncias. Dentre os dez Ingredientes Ativos mais vendidos no Brasil, o primeiro lugar é ocupado pelo herbicida glifosato e no quarto lugar está o inseticida organofosforado acefato (IBAMA, 2019). Devido a sua alta toxicidade, o acefato é proibido na União Europeia (Bombardi, 2017), mas no Brasil ele não só tem registro autorizado como é o inseticida mais vendido no país (IBAMA, 2019). Tanto o acefato quanto o glifosato são pesticidas sistêmicos e são ambos aplicados em culturas de algodão, citros, feijão, milho e soja.

Em *A. mellifera* a ingestão de acefato tem efeito negativo na oviposição, no cuidado com as larvas e pupas, no consumo e estocagem de alimento e na atividade motora dependendo de sua concentração (Fiedler, 1987), além de reduzir o consumo de alimento e suprimir a atividade da enzima esterase, a qual tem papel na desintoxicação do organismo (Zhu *et al.*, 2017; Yao *et al.*, 2018). Em abelhas sem ferrão o conhecimento sobre os efeitos do acefato são escassos. O acefato é considerado

altamente tóxico ($LD_{50} = 0,4234 \mu\text{g/abelha}$) para a abelha sem ferrão *Trigona spinipes* (Apidae: Meliponini), mediante exposição tópica (Macieira & Hebling-Beraldo, 1989). Uma pesquisa mais recente demonstrou que indivíduos de *Melipona quadrifasciata* apresentaram maior assimetria flutuante em virtude da exposição a acefato, methomyl e tiofanato-metílico benzimidazol aplicados simultaneamente em plantas em estufas (Prado-Silva *et al.*, 2018).

Uma vez que os inseticidas supostamente são mais tóxicos para os insetos polinizadores (Stanley & Preetha, 2016) do que os herbicidas, que são desenvolvidos para controle de plantas, há menos estudos sobre a toxicidade do glifosato às abelhas (Lima & Rocha, 2012). No entanto, pesquisas mais recentes têm demonstrado que esses agroquímicos podem prejudicar as abelhas (Lima *et al.*, 2016). Estudos demonstram que o herbicida glifosato induz apoptose em tecidos de abelha melífera (Gregorc & Ellis, 2011; Faita *et al.*, 2018) e seu consumo a longo prazo em concentrações residuais também leva a redução do peso corporal em *A. mellifera* (Yao *et al.*, 2018). Em relação às abelhas sem ferrão, sabe-se que o glifosato é altamente tóxico para larvas de *M. quadrifasciata* e provoca mortalidade maior que o inseticida imidacloprido (Seide *et al.*, 2018).

Além do efeito dos pesticidas separados, é importante que se considere a interação entre diferentes toxinas nas análises toxicológicas (Fernández-Alba *et al.*, 2002). Na natureza as abelhas são expostas cronicamente a diversos pesticidas simultaneamente (Goulson *et al.*, 2015) e estudos têm demonstrado que a combinação de pesticidas pode aumentar os efeitos nocivos sobre as abelhas (Gill *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2017). Além disso, há a necessidade de estudos que investiguem os efeitos da extensa exposição a doses baixas de pesticidas, simulando as condições de campo (Johnson *et al.*, 2010). A exposição única ou a curto-prazo a um pesticida provavelmente é rara na natureza (Arce *et al.*, 2018) e os efeitos da contaminação podem levar semanas para se tornarem aparentes (Gill *et al.*, 2012; Yao *et al.*, 2018).

A introdução de um novo composto prejudicial em um ambiente anteriormente não contaminado pode levar a comportamentos mal-adaptativos, em que a abelha mantém ou aumenta a ingestão do alimento contaminado, ou adaptativo, em que a abelha reduz a ingestão do alimento contaminado (Arce *et al.*, 2018). Apesar dos prejuízos causados às abelhas pelos inseticidas neonicotinóides, algumas espécies como

Bombus terrestris e *A. mellifera* não são capazes de sentir o gosto de neonicotinóides, além de serem atraídas por alimentos contaminados com esses produtos (Kessler *et al.*, 2015; Arce *et al.*, 2018). Há indícios de que abelhas sem ferrão do gênero *Plebeia* não sejam capazes de diferenciar fontes de alimento contaminadas ou não com pesticidas (Sánchez *et al.*, 2012; Tschoeke *et al.*, 2019).

Plebeia lucii tem uso generalista de recursos florais (Marques *et al.*, 2018), o que torna provável o contato dessas abelhas com plantas contaminadas com pesticidas. Atualmente não há estudos sobre efeitos de agroquímicos nessa espécie, mas sabe-se que em *Plebeia droryana* pesticidas podem provocar alta mortalidade em larvas, alteração da diferenciação de castas (dos Santos *et al.*, 2016) e comprometimento do reconhecimento e aceitação de rainhas virgens (Otesbelgue *et al.*, 2018).

O presente projeto se justifica pela importância econômica e ecológica das abelhas (vanEngelsdorp *et al.*, 2009) e pela necessidade de mais estudos que auxiliem na análise de risco de pesticidas a abelhas sem ferrão (Lima & Rocha, 2012; Lima *et al.*, 2016) em condições semelhantes às encontradas em campo, com exposição crônica da colônia a pequenas doses de misturas de agroquímicos (Fernández-Alba *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2010; Goulson *et al.*, 2015). Para tanto, dois dos dez Ingredientes Ativos mais vendidos no Brasil, o glifosato e acefato (IBAMA, 2019), foram selecionados para avaliação de risco em ambiente protegido em *P. lucii*, uma espécie de meliponíneo abundante no Brasil (Pedro, 2014). Esta proposta é inovadora entre estudos toxicológicos com abelhas silvestres brasileiras, pois são inexistentes avaliações dos efeitos de agroquímicos sobre as colônias de abelhas sem ferrão em condições de semi-campo. Além disso, testes de escolha com essas abelhas e a intoxicação conjunta a mais de um agroquímico serão realizados pela primeira vez.

- objetivo geral e objetivos específicos;

Objetivo geral:

Investigar os efeitos de agroquímicos no comportamento de forrageamento e força de colônias de abelhas sem ferrão em ambiente protegido.

Objetivos específicos:

- Observar o comportamento de forrageamento de *Plebeia lucii* em relação a alimentos contaminados com acefato e glifosato;
- Avaliar o efeito do acefato e glifosato em doses residuais e a longo prazo em colônias de *Plebeia lucii*.

- metodologia a ser utilizada;

- Comportamento de forrageamento:

As colônias de *P. lucii* serão obtidas por meio de caixas iscas mantidas em um fragmento de Mata Atlântica em Viçosa, MG, o que evitará a coleta de ninhos da natureza. Nos intervalos entre os experimentos, as colônias serão mantidas em condições naturais, no mesmo local onde foram coletadas. Cinco colônias de *Plebeia lucii* e seus respectivos alimentadores serão colocados individualmente dentro de estufas teladas cedidas pelo professor Lúcio A. de Oliveira Campos, localizadas no *campus* Viçosa da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Cada colônia será mantida na estufa 6 horas por dia ao longo de 10 dias (adaptado de Arce *et al.*, 2018).

As abelhas serão treinadas para visitar um alimentador localizado a cerca de dois metros da colônia. O alimentador consistirá em um suporte de madeira com oito *eppendorfs*, cada um contendo 10 ml de solução de sacarose com concentração igual a 60%. Essa concentração foi estabelecida de acordo com dados de da Silva *et al.* (2019) sobre forrageamento de *Plebeia flavocincta*. As oito soluções serão distribuídas em duplas contendo os seguintes tratamentos: solução de sacarose pura, solução de sacarose com 31,3 mg/kg de glifosato, solução de sacarose com 3,5 mg/kg de acefato e solução de sacarose com 31,3 mg/kg de glifosato e 3,5 mg/kg de acefato. As concentrações dos pesticidas foram definidas de acordo com resíduos de glifosato e acefato encontrados em néctar de plantas visitadas por abelhas, de acordo com Thompson *et al.* (2014) e Fiedler (1987), respectivamente.

As observações do comportamento serão feitas em cada alimentador por 10 minutos, seguidos de 10 minutos de anotações. Será observada a quantidade de abelhas e o tempo de permanência em cada *eppendorf*. Cada ciclo de observação e anotação será revezado entre as colônias sendo testadas simultaneamente, do início ao final das 6 horas diárias de experimento.

Ao final de cada dia os *eppendorfs* serão pesados e descartados. A cada dia de experimento, a posição dos *eppendorfs* no alimentador será trocada para evitar vieses relacionados a essa variável (adaptado de Arce *et al.*, 2018).

- Força das colônias expostas aos pesticidas

As colônias de *Plebeia lucii* serão transferidas para ninhos didáticos, com paredes externas móveis de madeira e paredes internas fixas de vidro coberto com papel celofane vermelho, que permitem a observação da colônia sem necessidade de abertura do ninho, reduzindo assim distúrbios na colônia. A entrada de cada colônia será acoplada a uma caixa de madeira (11cm x 11cm x 3,5cm) com alimentadores e tela na parte superior para evitar que as abelhas forrageiem em outras fontes e garantir que ingiram apenas o alimento fornecido, a fim de controlar a quantidade de agroquímico ao qual cada colônia será exposta. Serão quatro tratamentos: um com pólen e solução de sacarose não contaminados (controle); um com pólen e solução de sacarose contaminados com 629 mg/kg e 31,3 mg/kg de glifosato, respectivamente; um com pólen e solução de sacarose contaminados com 0,163 mg/kg e 3,5 mg/kg de acefato, respectivamente; e um com pólen contaminado com 629 mg/kg de glifosato e 0,163 mg/kg de acefato e solução de sacarose contaminada com 31,3 mg/kg de glifosato e 3,5 mg/kg de acefato. As concentrações dos pesticidas foram definidas de acordo resíduos de glifosato e acefato encontrados em néctar de plantas melitófilas e pólen coletado de abelhas, de acordo com Thompson *et al.* (2014), Fiedler (1987), Johnson *et al.* (2010) e Mullin *et al.* (2010). Para cada tratamento serão utilizadas cinco colônias (n=20). A cada três dias as colônias serão alimentadas com pólen e mel depositados na caixa com alimentadores. Para estimar a força da colônia, periodicamente será contabilizado para cada colônia: mortalidade de abelhas adultas, presença ou ausência da rainha, número de células auxiliares para formação de rainhas emergentes e número de abelhas que saíram para forrageio durante um período de observação a ser estabelecido. O volume de alimento consumido pelas abelhas será estimado em cada ninho por meio de pesagens dos alimentadores antes e após a exposição das abelhas. Além disso, a massa das colônias antes, durante e após os experimentos será comparada entre os diferentes

tratamentos. Esse monitoramento se dará por 90 dias, a fim de avaliar o efeito a longo prazo dos pesticidas não só nas abelhas adultas, mas também nas larvas alimentadas com alimento larval contaminado.

- Análise dos dados

Os dados serão analisados no programa estatístico R. Quanto ao comportamento de forrageamento, será feita a comparação estatística entre a média do consumo das soluções de sacarose, número de visitantes simultâneos e tempo de permanência das abelhas entre os tratamentos. Quanto a força da colônia, será feita uma análise de sobrevivência e comparação das médias do número de operárias emergentes, número de forrageadoras e número de células auxiliares para formação de rainhas emergentes entre colônias expostas aos diferentes tratamentos. As massas do alimento consumido pelas abelhas e das colônias também serão comparadas entre os diferentes tratamentos por meio de teste de médias.

- atividades previstas;

Primeiramente serão obtidas as caixas didáticas para abelhas sem ferrão. Essas serão feitas sob encomenda e devem ser retiradas em outro município de Minas Gerais, tornando viagens de carro necessárias. Uma vez com as caixas didáticas, serão feitas as transferências de ninho e início da climatização das abelhas na estufa e treinamento para visitação aos alimentadores com *eppendorfs* contendo soluções de sacarose a 60%, preparadas com açúcar cristal e água destilada. Após essa etapa, será feito um projeto piloto para avaliar o comportamento das abelhas dentro das estufas e definir os melhores horários para observações de forrageamento. Uma vez concluído o projeto piloto, se iniciarão os experimentos. Como há apenas três estufas para cinco colônias, num primeiro momento os experimentos serão feitos com três colônias e depois com duas. Cada ninho ficará em uma estufa diferente para garantir que a observação do comportamento se refere a respectiva colônia. A contagem das abelhas no alimentador será feita com um contador manual e o tempo cronometrado no telefone celular. Após cada um dos dez dias de experimento os ninhos serão retirados da estufa e mantidos em ambiente natural, podendo receber alimentação complementar de soluções de mel. Os *eppendorfs* serão descartados para evitar contaminação. As colônias utilizadas nessa primeira etapa serão transferidas para ninhos completamente de madeira e mantidas nas dependências do *campus* Viçosa da Universidade Federal de Viçosa. Elas não serão

utilizadas na segunda etapa para evitar eventuais vieses devido a efeitos remanescentes da primeira etapa.

Na segunda etapa do projeto, para avaliação da força das colônias expostas aos pesticidas, será feito a princípio um projeto piloto para determinar a frequência com a qual os ninhos devem ser monitorados e alimentados. Depois disso, vinte novas colônias serão transferidas para as caixas didáticas para abelhas sem ferrão e mantidas nas três estufas até a climatização. Nessa etapa os ninhos ficarão isolados do ambiente externo e as abelhas forragearão apenas na caixa de madeira onde será depositado o alimento de acordo com o respectivo tratamento. O pólen será retirado de outros ninhos de abelha e a solução de sacarose será feita com açúcar cristal e água destilada. Cada ninho será pesado semanalmente.

Finalizados todos os experimentos, os dados serão então analisados no R. Durante todas as etapas da pesquisa serão feitos registros fotográficos e vídeos das abelhas. Eventualmente algumas colônias podem perecer antes da realização dos experimentos, o que tornaria necessário a ida a Belo Horizonte para obtenção de novos ninhos em tempo hábil, uma vez que a coleta por iscas pode demorar e comprometer o cronograma estabelecido. As análises dos dados serão realizadas em um notebook com memória compatível com a necessidade do *software* estatístico e de bancos de dados.

- detalhamento da infraestrutura física e tecnológica a ser utilizada;

Os experimentos serão conduzidos em estufas que já estão presentes no *campus* Viçosa da UFV e já foram cedidas pelo professor responsável. As vinte caixas didáticas para abelhas sem ferrão devem ser encomendadas e tem prazo de duas semanas para serem feitas, que é um tempo que está dentro do nosso cronograma. As caixas de madeira que serão acopladas no ninho já estão presentes na instituição. O glifosato e acefato já estão presentes no Laboratório das Abelhas e Vespas, sob coordenação da professora Dr^a. Maria Augusta Lima Siqueira, assim como os equipamentos (micropipetas, ponteiras e vidraria) necessários para a manipulação desses compostos e preparação das soluções. Os ninhos dos quais serão retirados o pólen para alimentação das colônias estão no Apiário da UFV. A aquisição do restante dos equipamentos que deverão ser utilizados (câmera fotográfica e lentes necessárias, caixas didáticas, contador manual, balança básica, notebook, *eppendorfs*, açúcar cristal e mel) depende do financiamento FUNBIO.

- linhas gerais do cronograma a ser cumprido;

Mês/ano	Atividades					
	Projeto piloto	Etapa 1*	Etapa 2**	Análise dos dados	Redação do relatório	Redação da dissertação
Janeiro/2020	X					
Fevereiro/2020		X				
Março/2020		X				
Abril/2020	X					
Mai/2020			X			
Junho/2020			X			
Julho/2020			X			
Agosto/2020			X			
Setembro/2020				X		
Outubro/2020				X		
Novembro/2020				X		
Dezembro/2020				X	X	
Janeiro/2021					X	X
Fevereiro/2021						X

* Experimentos para avaliação do comportamento de forrageamento

** Experimentos para avaliação da força das colônias expostas aos pesticidas

- planilha de orçamento com estimativa dos gastos previstos;

Orçamento da Pesquisa						
Categoria de despesa	Descrição dos itens	Material será cedido para Instituição (Sim ou Não)	Quantidade	Unidade (un; litro; metro; dia; km)	Valor Unitário (R\$)	Valor Total (R\$)
Uso e consumo (descrever cada item)	Balde de mel puro, 5 kg	Sim	1	unidade	R\$ 100,00	100,00
	Pacote de 5 kg de açúcar cristal	Sim	2	unidade	R\$ 10,00	20,00
	Pacote de <i>ependorfs</i> de 1.5 ml, graduado, transparente, com 500 unidades	Sim	1	unidade	R\$ 100,00	100,00
Viagens	Passagem para coletas de abelhas (Viçosa/Belo Horizonte/Viçosa)	Não	2	unidade	R\$ 90,00	180,00
	Hospedagem, alimentação e deslocamento	Não	2	dias	R\$ 200,00	400,00
	Combustível	Não	50	litros	R\$ 6,00	300,00
Equipamentos	Notebook com memória compatível com análise de dados	Sim	1	unidade	R\$ 6.000,00	6.000,00
	Balança básica	Sim	1	unidade	R\$ 6.500,00	6.500,00
	Kit com câmera fotográfica digital, lente 18-55mm, tripé de mesa, bolsa para transporte, cartão de memória 64 gb	Sim	1	unidade	R\$ 3.000,00	3.000,00
	Contador manual	Sim	2	unidade	R\$ 20,00	40,00
	Lente de 70-300 mm para câmera fotográfica	Sim	1	unidade	R\$ 1.000,00	1.000,00
Outros (específico para o projeto)	Caixa didática para abelha sem ferrão	Sim	20	unidade	R\$ 100,00	2.000,00
TOTAL						19.640,00

- resultados esperados e impacto previsto do projeto;

É esperado que *Plebeia lucii* não seja repelida pelo alimento contaminado, podendo, inclusive, ser atraída por esse alimento. Estudos anteriores indicam que outras espécies de *Plebeia* não são capazes de diferenciar fontes de alimento contaminadas ou não com pesticidas (Sánchez *et al.*, 2012; Tschoeke *et al.*, 2019). Outras abelhas, como *B. terrestris* e *A. mellifera* não são capazes de sentir o gosto de neonicotinóides, além de serem atraídas por alimentos contaminados com esses produtos (Kessler *et al.*, 2015; Arce *et al.*, 2018). Entretanto, não existem estudos com testes de escolha entre diferentes pesticidas e soluções não contaminadas em abelhas sem ferrão. Além disso, neste projeto estudos de escolha de pesticidas em ambiente protegido serão conduzidos, pela primeira vez, com abelhas silvestres neotropicais.

Quanto a toxicidade do glifosato e acefato, é esperado que esses pesticidas sejam altamente tóxicos para *P. lucii*, separadamente e em conjunto, uma vez que eles o são para outras espécies de abelhas sem ferrão adultas e em estágio larval (Macieira & Hebling-Beraldo, 1989; Seide *et al.*, 2018). Porém, o efeito sinérgico de pesticidas a abelhas sem ferrão ainda necessita ser pesquisado, particularmente para compostos amplamente usados no Brasil, como o glifosato e acefato. O menor tamanho de *P. lucii* provavelmente a torna mais sensível a agrotóxicos, mas essa hipótese ainda tem que ser testada.

A metodologia inovadora desse projeto poderá servir de base para futuras pesquisas desse tipo com outras espécies de abelhas sem ferrão. Ele também oferecerá subsídios para as argumentações quanto a decisões sobre liberação no uso de determinados agrotóxicos no Brasil e outros países tropicais, nos quais há biodiversidade de meliponíneos. Esta proposta também contribuirá para o reconhecimento das ameaças aos polinizadores nativos do nosso país, o que auxiliará no direcionamento de medidas de conservação das abelhas e, por consequência, dos ecossistemas nos quais esses insetos estão inseridos.

• referências bibliográficas.

Arce, A.N.; Rodrigues A.R.; Yu, J; Colgan, T.J.; Wurm, Y.; Gill, R.J. Foraging bumblebees acquire a preference for neonicotinoid-treated food with prolonged exposure. *Proc. R. Soc. B*, 285: 20180655, 2018.

Arena, M; Sgolastra, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology*, 23:324–334, 2014.

Biesmeijer, J.C.; Roberts, S.P.M.; Reemer, M.; Ohlemüller, R.; Edwards, M.; Peeters, T.; Schaffers, A.P.; Potts, S. G.; Kleukers, R.; Thomas, C.D.; Settele, J.; Kunin, W.E. Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313: 351 – 354, 2006.

Blaauw, B.R.; Isaacs, R. Flower plantings increase wild bee abundance and the pollination services provided to a pollination-dependent crop. *Journal of Applied Ecology*, 51, 890–898, 2014.

Bombardi, L.M. Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia. 1. ed. São Paulo: FFLCH – USP, 2017, 296 p.

Briggs, H. Bees: Many British pollinating insects in decline, study shows. Disponível em: < <https://www.bbc.com/news/science-environment-47698294>>. Acesso em: 04 de julho de 2019.

Cham, K.O.; Nocelli, R.C.F.; Borges, L.O.; Viana-Silva, F.E.C.; Tonelli, C.A.M.; Malaspina, O.; Menezes, C.; Rosa-Fontana, A.S.; Blochtein, B.; Freitas, B.M.; Pires, C.S.S.; Oliveira, F.F.; Contrera, F.A.L.; Torezani, K.R.S.; Ribeiro, M.F.; Siqueira, M.A.L.; Rocha, M.C.L.S.A. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. *Environmental Entomology*, XX(X): 1–13, 2018.

Devillers, J.; Decourtye, A.; Budzinski, H.; Pham-Delgue, M.H.; Cluzeau, S.; Maurin, G. Comparative toxicity and hazards of pesticides to Apis and non-Apis bees. A chemometrical study. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 14(5-6): 389-403, 2003.

dos Santos, C.F.; Acosta A.L.; Dorneles, A.L.; dos Santos, P.D.S.; Blochtein, B. Queens become workers: pesticides alter caste differentiation in bees. *Sci. Rep.* 6: 31605, 2016.

- Faita, M.R.; Oliveira, E.M.; Júnior, V.V.A.; Orth, A.I.; Nodari, R.O. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere*, 211: 566e572, 2018.
- Fernández-Alba, A.R.; Hernando, M.D.; Piedra, L.; Chisti, Y. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. *Analytica Chimica Acta* 456: 303–312, 2002.
- Fiedler, L. Acephate Residues After Pre-Blossom Treatments: Effects on Small Colonies of Honey Bees. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 38:594-601, 1987.
- Garratt, M.P.D.; Breeze, T.D.; Jenner, N.; Polce, C.; Biesmeijer, J.C.; Potts, S.G. Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 184: 34–40, 2014.
- Ghazoul, J. Buzziness as usual? Questioning the global pollination crisis. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 20(7): 367-373, 2005.
- Gill, R.J.; Ramos-Rodriguez, O.; Raine, N.E. Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature*, 491: 105-109, 2012.
- Goulson, D.; Nicholls, E.; Botías, C.; Rotheray, E.L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science* 347 (6229); 1255957, 2015.
- Gregorc, A.; Ellis, J.E. Cell death localization *in situ* in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2): 200-207, 2011.
- IBAMA. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 15 de junho de 2019.
- Johnson, R.M.; Ellis, M.D.; Mullin, C.A.; Frazier, M. Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie* 41: 312–331, 2010.
- Kessler, S.C.; Tiedeken, E.J.; Simcock, K.L.; Derveau, S.; Mitchell, J.; Softley, S.; Radcliffe, A.; Stout, J.C.; Wright, G.A. Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. *Nature*, 521: 74 – 76, 2015.

- Koh, I.; Lonsdorf, E.V.; Williams, N.M.; Brittain, C.; Isaacs, R.; Gibbs, J.; Ricketts, T.H. Modeling the status, trends, and impacts of wild bee abundance in the United States. *PNAS*, 113(1): 140-145, 2016.
- Lima, M.C.; Rocha, S.A. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento. Brasília: Ibama, 2012, 88p.
- Lima, M.A.P.; Martins, G.F.; Oliveira, E.E.; Guedes, R.N.C. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. *J Comp Physiol A*, DOI 10.1007/s00359-016-1110-3, 2016.
- Macieira, O.J.D.; Hebling-Beraldo, M.J.A. Laboratory Toxicity of Insecticides to Workers of *Trigona Spinipes* (F., 1793) (Hymenoptera, Apidae), *Journal of Apicultural Research*, 28(1): 3-6, 1989.
- Marques, M.F.; Deprá, M.S.; Gaglianone, M.C. Seasonal Variation in Bee-Plant Interactions in an Inselberg in the Atlantic Forest in Southeastern Brazil. *Sociobiology*, 65(4): 612-620, 2018.
- Milfont, M.O.; Rocha, E.E.M.; Lima, A.O.N.; Freitas, B.M.. Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environ Chem Lett*, 11:335–341, 2013.
- Mullin, C.A.; Frazier, M.; Frazier, J.L.; Ashcraft, S.; Simonds, R.; vanEngelsdorp, D.; Pettis, J.S. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. *PLoS ONE* 5(3): e9754, 2010.
- Neilson, S. More Bad Buzz For Bees: Record Number Of Honeybee Colonies Died Last Winter. Disponível em: <<https://www.npr.org/sections/thesalt/2019/06/19/733761393/more-bad-buzz-for-bees-record-numbers-of-honey-bee-colonies-died-last-winter>>. Acesso em: 04 de julho de 2019.
- Otesbelgue, A.; dos Santos, C.F.; Blochtein, B. Queen bee acceptance under threat: Neurotoxic insecticides provoke deep damage in queen-worker relationships. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166: 42–47, 2018.
- Pedro, S.R.M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 61(4): 348-354, 2014.

- Potts, S.G.; Biesmeijer, J.C.; Kremen, C.; Neumann, P.; Schweiger, O.; Kunin, W.E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 25(6): 345-353, 2010.
- Prado-Silva, A.; Nunes, L.A.; dos Santos, J.M.; Affonso, P.R.A.M.; Waldschmidt, A.M. Morphogenetic Alterations in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae) Associated with Pesticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 74:627–632, 2018.
- Rodrigues, C.S.; Ferasso, D.C.; Prestes, O.D.; Zanella, R.; Grando, R.C.; Treichel, H.; Coelho, G.C.; Mossi, A.J. Quality of Meliponinae honey: Pesticides residues, pollen identity, and microbiological profiles. *Environ QualManage.*, 27:39–45, 2018.
- Roubik, DW. Pollinator safety in agriculture. Rome, FAO, 2014.
- Sánchez, D.; Solórzano, E.J.; Liedo, P.; Vandame, R. Effect of the Natural Pesticide Spinosad (Gf-120 Formulation) on the Foraging Behavior of *Plebeia moureana* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 105(4): 1234 – 1237, 2012.
- Seide, V.E.; Bernardes, R.C.; Pereira, E.J.G.; Lima, M.A.P. Glyphosate is lethal and cry toxins alter the development of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. *Environmental Pollution*, 243: 1854-1860, 2018.
- Stanley, J.; Preetha, G. Pesticide Toxicity to Pollinators: Exposure, Toxicity and Risk Assessment Methodologies. In: *Pesticide Toxicity to Non-target Organisms: Exposure, toxicity and risk assessment methodologies*. Dordrecht: Springer Science+Business Media, 2016, 502 pp.
- Stoner, K.A.; Eitzer, B.D. Using a Hazard Quotient to Evaluate Pesticide Residues Detected in Pollen Trapped from Honey Bees (*Apis mellifera*) in Connecticut . *PLoS ONE*, 8(10): e77550, 2013.
- Tschoeke, P.H.; Oliveira, E.E.; Dalcin, M.S.; Silveira-Tschoeke, M.C.A.C.; Sarmiento, R.A.; Santos, G.R. Botanical and synthetic pesticides alter the flower visitation rates of pollinator bees in Neotropical melon fields. *Environmental Pollution*, 251: 591e599, 2019.

vanEngelsdorp, D.; Evans, J.D.; Saegerman, C.; Mullin, C.; Haubruge, E.; Nguyen, B.K.; Frazier, M.; Frazier, J.; Cox-Foster, D.; Chen, Y.; Underwood, R.; Tarpy, D.R.; Pettis, J.S. Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *PLoS ONE*, 4(8): e6481, 2009.

Vasconcelos, Y. Pesticides in the balance. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/en/2019/02/25/pesticides-in-the-balance/>. Acesso em: 27 de junho de 2019.

Venturiere, G.C.; Alves, D.A.; Villas-Bôas, J.K.; de Carvalho, C.A.L.; Menezes, C.; Vollet-Neto, A.; Contrera, F.A.L.; Cortopassi-Laurino, M.; Nogueira-Neto, P.; Imperatriz-Fonseca, V.L. Meliponicultura no Brasil: Situação Atual e Perspectivas Futuras para o Uso na Polinização Agrícola. In: Imperatriz-Fonseca, V.L.; Canhos, D.A.L.; Alves, D.A.; Saraiva, A.M. (Orgs.). *Polinizadores no Brasil: Contribuição e Perspectivas para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2012. cap. 11, p. 213-236.

Yao, J.; Zhu, Y.C.; Adamczyk, J.; Luttrell, R. Influences of acephate and mixtures with other commonly used pesticides on honey bee (*Apis mellifera*) survival and detoxification enzyme activities. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 209: 9–17, 2018.

Zhu, Y.C.; Yao, J.; Adamczyk, J.; Luttrell, R. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*, 12(6): e0178421, 2017.