

JOYCE OLIVEIRA COSTA

**AVALIAÇÃO DAS SENSIBILIDADES ORAL E
RESIDUAL AO AGROTÓXICO VERTIMEC®
18 EC EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO
NAS ESPÉCIES *MELIPONA SCUTELLARIS* E
*TETRAGONISCA ANGUSTULA***

**SÃO CARLOS
2022**

**ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

**AVALIAÇÃO DAS SENSIBILIDADES ORAL E
RESIDUAL AO AGROTÓXICO VERTIMEC®
18 EC EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO
NAS ESPÉCIES *MELIPONA SCUTELLARIS* E
*TETRAGONISCA ANGUSTULA***

Versão corrigida

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Ciências da Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental da Universidade de São Paulo

Orientadora: Prof^a Dr^a Eny Maria Vieira

**SÃO CARLOS
2022**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

C837a Costa, Joyce Oliveira
AVALIAÇÃO DAS SENSIBILIDADES ORAL E RESIDUAL AO AGROTÓXICO VERTIMEC® 18 EC EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO NAS ESPÉCIES MELIPONA SCUTELLARIS E TETRAGONISCA ANGUSTULA / Joyce Oliveira Costa; orientadora Eny Maria Vieira. São Carlos, 2022.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2022.

1. Abelhas nativas. 2. Abamectina. 3. Exposição oral. 4. Tempo Residual. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **JOYCE OLIVEIRA COSTA**.

Título da dissertação: "Avaliação das sensibilidades oral e residual ao agrotóxico Vertimec® 18 EC em diferentes estações do ano nas espécies *Meliponascutellaris* e *Tetragoniscaangustula*".

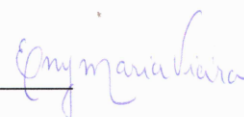
Data da defesa: 24/02/2022.

Comissão Julgadora

Resultado

Profa. Dra. **Eny Maria Vieira** (Orientadora)
(Instituto de Química de São Carlos/EESC-USP)

Aprovada



Prof. Associado **Juliano José Corbi**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

Aprovada p/



Dra. **Caroline Moço Erba Pompei**
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP)

Aprovada



Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

Prof. Titular **Marcelo Zaiat**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

*Aos meus pais, Elisabeth e Helio,
e a minha irmã Francine.*

*A pessoa que sou hoje,
é fruto do apoio e amor
incondicionais que me dão*

Este trabalho, dedico a vocês.

“Só quando a última árvore for derrubada, o último peixe for morto e o último rio for poluído é que o homem perceberá que não pode comer dinheiro.”

Provérbio indígena

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a agência de fomento à pesquisa, CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – pela bolsa por todo meu mestrado, possibilitando dedicação total à pesquisa e estudos.

À Universidade de São Paulo campus São Carlos ou como carinhosamente me refiro, CAASO. Local onde iniciei meus estudos e onde escolhi continuar aprimorando minha área, e principalmente, por ser palco de parte da minha vida. O que vivi nestes anos: as histórias que tenho a contar, as pessoas que convivi, os amigos que fiz, o que realizei em paralelo a vida acadêmica me engrandeceram como indivíduo de tal forma que não posso mensurar. Foi um privilégio estudar nesta universidade.

À minha orientadora Prof^a Eny Maria Vieira por me aceitar como aluna e por me guiar na minha trajetória inicial na pós-graduação. Todo seu suporte foi essencial para o andamento da pesquisa.

À Dr^a Janete Brigante que desde 2016 me faz ser fascinada pelas abelhas. Meu objetivo de salvá-las foi porque me mostrou que nosso conhecimento sobre elas ainda é muito raso, porém, se não houver essa vontade de entendê-las e preservá-las, estaremos fadados a desaparecer junto com elas.

Aos meus pais, Elisabeth e Helio, pois o incentivo aos estudos persiste até hoje. Consegui chegar onde estou, porque muitas vezes, abdicaram do que queriam para que eu conquistasse meu espaço. Eu sou eternamente grata ao amor e dedicação de vocês. Vocês são os melhores pais que alguém poderia ter.

À minha irmã, Francine. Ela me mostrou que o que importa da vida, é vivê-la. Da melhor maneira. Sem deixar passar uma oportunidade. Sem arrependimentos. Criando memórias. Eu agradeço ao universo por essa oportunidade de vivermos no mesmo tempo e espaço para compartilharmos nossas vidas juntas.

Aos meus sobrinhos, Pablo e Miguel. Pablo por me mostrar que, às vezes, é bom não ter planos e ser impulsivo e ao Miguel, por mais que seja criança agora, todas as pausas que fiz para que me explicasse um jogo ou um vídeo que estava vendo me mostraram que muitas vezes o que eu precisava era um momento de leveza. Além disso, agradeço pelo conhecimento adquirido em jogos/vídeos/piadas destes últimos dois anos que você me proporcionou.

Ao Guilherme Stetelle, por ser meu companheiro destes últimos três anos. Que

sempre, nos meus piores momentos quando me questiono, mostra o porquê ele acredita no meu potencial. Pelo seu amor incondicional e por ser a ordem nesta minha vida imprevisível.

E a todos meus amigos que apoiaram este mestrado: seja por todas as conversas leves, os momentos de distração, as dicas dadas, conselhos oferecidos... por serem quem são. Para mim, isso foi fundamental.

RESUMO

COSTA, J. O. **Avaliação das sensibilidades oral e residual ao agrotóxico Vertimec® 18 EC em diferentes estações do ano nas espécies *Melipona scutellaris* e *Tetragonisca angustula***. 2022. 75f. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2022.

A abelha da espécie *Apis mellifera* apresenta maior sensibilidade ao entrar em contato com agrotóxico no inverno, dada às mudanças fisiológicas que ocorrem na presença de baixas temperaturas. Evidências indicam que as abelhas nativas também apresentam a mesma variação de sensibilidade. Para corroborar estes estudos, bioensaios de exposição oral e residual por contato com folhas de feijão-preto foram realizados com o agrotóxico Vertimec® 18 EC, de ingrediente ativo, abamectina. Utilizado em lavouras de morango na cidade de Bom Repouso (MG), onde as espécies *Melipona scutellaris* e *Tetragonisca angustula* serão inseridas visando o aumento da produtividade desse cultivo. O primeiro bioensaio, de exposição oral, ocorreu para ambas às espécies, no verão e no inverno, oferecendo um alimento contaminado com agrotóxico em diferentes concentrações, as quais obtidas a partir de bioensaios preliminares. Buscou-se a concentração que causava 50% de letalidade na amostra, a CL_{50} . Para a *M. scutellaris*, os valores foram 0,000018; 0,000180; 0,001800; 0,018000 e 0,180000 $mg mL^{-1}$ e para a *T. angustula*, 0,000900; 0,001800; 0,003600; 0,005400; 0,007500; 0,010000 e 0,018000 $mg mL^{-1}$. Como resultado, para o verão, a *M. scutellaris* e *T. angustula* obtiveram, respectivamente, 0,0080 μg i.a. mL^{-1} de dieta e 0,0014 μg i.a. mL^{-1} de dieta, enquanto no inverno, os valores foram, para a *T. angustula*, de 0,0064 μg i.a. mL^{-1} . O bioensaio de tempo letal (ou TL_{50}) calculou o tempo que 50% de amostra foi morta ao ser exposta oralmente a uma concentração de agrotóxico. Seguiu-se a mesma metodologia que o bioensaio descrito anteriormente, porém, diferindo em relação à concentração utilizada, apenas a dose máxima recomendada para o cultivo do morango, 0,0135 $mg mL^{-1}$, e os tempos de leituras de exposição. No verão, para a *M. scutellaris* e *T. angustula* foram, respectivamente, 18,16 e 7,95h, enquanto para o inverno, a *M. scutellaris* apontou em um tempo superior a duração do teste, e a *T. angustula*, 12,99h. O tempo residual objetivou-se calcular o tempo que 25% da amostra da *T. angustula* foi afetada letalmente após contato com as folhas contaminadas do feijão-preto com a dose máxima recomendada para o cultivo de morango. No verão, o valor se encontrou em 8h, e no inverno, apenas em 72h. Os resultados indicaram que de modo geral, ambas as espécies nativas são menos oralmente suscetíveis ao Vertimec® 18 EC no inverno, porém, a exposição residual indica que essa sensibilidade é maior em baixas temperaturas, sendo a ação do agrotóxico intensificada causando maior perda da população. Com isso, a existência das abelhas nativas e a variação de temperatura nas estações do ano devem ser consideradas pelo fabricante para indicar doses do produto que minimizem os efeitos nos organismos não-alvos.

Palavras-chave: Abelhas nativas. Abamectina. Exposição oral. Tempo Residual.

ABSTRACT

COSTA, J. O. **Evaluation of oral and residual sensitivities to the pesticide Vertimec® 18 EC in different seasons on the species *Melipona scutellaris* and *Tetragonisca angustula*.** 2022. 75p. Master's thesis. Graduate Program in Environmental Engineering Sciences. University of São Paulo, São Carlos, 2022.

The bee of the species *Apis mellifera* is more sensitive when coming into contact with pesticides in winter, given the physiological changes that occur in the presence of low temperatures. Evidences indicate that native bees also have the same sensitivity range. To corroborate these studies, oral and residual exposure by contact with black bean leaves bioassays were performed with the pesticide Vertimec® 18 EC, active ingredient, abamectin. Used in strawberry crops in the city of Bom Repouso (MG), where the species *Melipona scutellaris* and *Tetragonisca angustula* will be inserted in order to increase the productivity of this crop. The first bioassay, oral exposure, occurred for both species, in summer and winter, offering a food contaminated with pesticide in different concentrations, which were obtained from preliminary bioassays. The concentration that caused 50% of lethality in the sample, the LC₅₀, was sought. For *M. scutellaris*, the values were 0.000018; 0.000180; 0.001800; 0.018000 and 0.180000 mg ml⁻¹ and for *T. angustula*, 0.000900; 0.001800; 0.003600; 0.005400; 0.007500; 0.010000 and 0.018000 mg mL⁻¹. As a result, for the summer, *M. scutellaris* and *T. angustula* obtained, respectively, 0.0080 µg a.i. mL⁻¹ of diet and 0.0014 µg a.i. mL⁻¹ of diet, respectively, while in winter, the values for *T. angustula* were 0.0064 µg a.i. mL⁻¹. The lethal time bioassay (or LT₅₀) calculated the time that 50% of the sample was killed by being orally exposed to a concentration of pesticide. The same methodology as the bioassay described previously was followed, however, differing in relation to the concentration used, only the maximum recommended dose for strawberry cultivation, 0.0135 mg mL⁻¹, and the exposure reading times. In the summer, for *M. scutellaris* and *T. angustula*, they were, respectively, 18.16 and 7.95h, while for the winter, *M. scutellaris* showed a time greater than the duration of the test, and for *T. angustula*, 12.99h. The residual time was used to calculate the time that 25% of the *T. angustula* sample was lethally affected after contact with contaminated black bean leaves with the maximum dose recommended for strawberry cultivation. In summer, the value was found in 8h, and in winter, only in 72h. The results indicated that, in general, both native species are less orally susceptible to Vertimec® 18 EC in winter, however, residual exposure indicates this sensitivity is greater at low temperatures, and the action of the pesticide is intensified causing greater loss of population. With this, the existence of native bees and the temperature variation in the seasons of the year must be considered by the manufacturer to indicate doses of the product that minimize the effects on non-target organisms.

Keywords: Native bees. Abamectin. Oral exposure. Residual Time.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Critérios utilizados para construção da matriz	26
Figura 2. Critérios e pontuações utilizados para a seleção de espécies de abelhas para análise de risco de agrotóxicos	27
Figura 3. Espécies de abelhas sociais e solitárias prioritárias para análise de risco de agrotóxicos	28
Figura 4. Principais prós e contras das abelhas selecionadas para análise de risco	29
Figura 5. Representação da estrutura química da abamectina	32
Figura 6. Modelo conceitual genérico para agrotóxicos não sistêmicos aplicados por pulverização na avaliação de risco para abelhas	36
Figura 7. Evolução da mortalidade <i>M. scutellaris</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.	47
Figura 8. Evolução da mortalidade <i>T. angustula</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.	48
Figura 9. Evolução da mortalidade <i>T. angustula</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno	50
Figura 10. Evolução da mortalidade <i>M. scutellaris</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão	54
Figura 11. Evolução da mortalidade <i>T. angustula</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão	55
Figura 12. Evolução da mortalidade <i>M. scutellaris</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno	57
Figura 13. Evolução da mortalidade <i>T. angustula</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno	58
Figura 14. Evolução da mortalidade <i>T. angustula</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão	60
Figura 15. Evolução da mortalidade <i>T. angustula</i> após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Toxicidade relativa do inseticida Vertimec® 18 EC as abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula* durante o verão e inverno **43**

Quadro 2. Tempo Letal do inseticida Vertimec® 18 EC das abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula* para verão e inverno **52**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1 Serviços Ecosistêmicos: definição e tipos	19
3.1.1 A polinização como serviço ecossistêmico	19
3.2 A biologia da polinização	19
3.2.1 Agentes polinizadores e seu papel no fenômeno	20
3.2.1.1 As abelhas como agentes polinizadores	20
3.3 Abelhas nativas: contextualização	21
3.3.1 Caracterização morfológica das abelhas dos gêneros <i>Melipona</i> e <i>Trigoniformes</i>	21
3.3.2 Organização social dos gêneros que compõem a Tribo Meliponini	22
3.3.3 <i>Melipona scutellaris</i> (SMITH, 1812) e <i>Tetragonisca angustula</i> (SMITH, 1811) como objetos de estudo	24
3.4 Estressor Ambiental	29
3.4.1 Definição e classificação	29
3.5 Avaliação ambiental de agrotóxicos	32
3.6 Avaliação de risco ambiental de agrotóxicos no cenário brasileiro: abelhas como organismo teste	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Agrotóxico testado	38
4.2 Organismos testes	38
4.3 Bioensaios	38
4.4 Análise estatística	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6. CONCLUSÃO	62
7. BIBLIOGRAFIA	64

1. Introdução

Khalifa e colaboradores (2021) definem a polinização como o suporte dos sistemas ecológicos, bem como para a produção agrícola. As abelhas são as principais responsáveis por esse processo (KLEIN *et al.*, 2007). Essa representatividade é explicada por sua coevolução com as angiospermas manifestada tanto nos aspectos morfológicos quanto comportamentais, tornando-as mais eficientes na polinização (LINSLEY, 1958; PERCIVAL, 1965; BAKER; HURD, 1968; STEPHEN *et al.*, 1969; FAEGRI; VAN DER PIJL, 1971; PROCTOR; YEO, 1972).

Detalhadamente, a eficiência das abelhas para a polinização é explicada pela necessidade do uso dos recursos florais (pólen e néctar) em diferentes fases da vida do inseto. O aparato anatômico e funcionamento interno da abelha garantem a eficiência durante a coleta e transporte de néctar e pólen, por exemplo, além de possuírem um metabolismo sincronizado com eventos florais apoiado por uma memória temporal que auxilia na interação com esses recursos (MOORE, 2001; SILVEIRA *et al.*, 2002).

Nogueira-Couto (1998) constatou que as abelhas nativas participam da polinização de cerca de 90% das espécies de plantas com flores e 80% dos vegetais de interesse econômico, corroborando o estudo da Plataforma Brasileira de Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos (BPBES, 2019). Tal estudo identificou as abelhas como visitantes florais de 132 tipos de cultivos agrícolas e polinizadoras de 91 destes tipos. Considerando este cenário, as abelhas nativas ganham destaque pela sua importância, tanto para a preservação e renovação das florestas tropicais quanto da melhoria da produção agrícola.

Giannini e Cordeiro (2016) ao avaliarem 250 espécies animais envolvidas na polinização, constataram que de 75 culturas agrícolas brasileiras, 87% são abelhas sendo, aproximadamente, 23 espécies de abelhas sem ferrão (SILVA *et al.*, 2015). Tal constatação também é sustentada pelo estudo da BPBES (2019) que afirmou que dos 107 cultivos visitados pelas abelhas nativas, 52 são polinizados por elas.

Mesmo as abelhas sendo as responsáveis pela polinização, o que se verifica nas últimas décadas é seu declínio populacional (ALLEN-WARDELL *et al.*, 1998, WESTERKAMP; GOTTSBERGER, 2002; ELLIS *et al.*, 2010; POTTS *et al.*, 2016). O declínio dos polinizadores acarreta em menor biodiversidade nos ecossistemas, gerando maior vulnerabilidade a pragas e doenças. Fato este que também gera dano à fauna e a flora nos locais de atuação das abelhas. Pensando no interesse humano, a consequência

deste declínio é a redução da produção agrícola e da oferta de alimentos, o que certamente ocasionará uma crise na segurança alimentar (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO, 2019).

Há diversos fatores sendo investigados como responsáveis pelo declínio das abelhas, sendo um deles o uso de agrotóxicos nas culturas visitadas por elas, levando à mortalidade devido à sua suscetibilidade, ou seja, ao envenenamento químico que se relaciona à espécie, ao tipo de agrotóxico, e a uma série de variáveis que se relacionam à exposição. Tais fatores podem ocasionar ou a morte imediata das abelhas ou efeitos subletais, como alteração comportamental, física, biológica entre outros efeitos negativos (SCHRICKER; STEPHEN, 1970; STONER *et al.*, 1985; MALASPINA *et al.*, 2008; SIMON-DELSO *et al.*, 2015).

O Vertimec® 18 EC foi selecionado para este estudo por ter sido identificado como um dos inseticidas mais amplamente utilizados nas lavouras de morango localizadas na região sul do estado de Minas Gerais, com foco naquelas existentes no município de Bom Repouso, pois é uma região que estuda introduzir abelhas nativas para ampliar a produtividade da lavoura.

O Vertimec® 18 EC é um inseticida/acaricida do grupo químico avermectina, com ingrediente ativo, abamectina. Extremamente tóxico ao ser humano e muito perigoso ao meio ambiente, sendo utilizada para as culturas de algodão, batata, café, citros, crisântemos, morango, feijão entre outros (AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ – ADAPAR, 2021). Este ingrediente ativo é responsável por inibir a ação de detoxificação de xenobióticos pelo sistema dos insetos (MAO *et al.*, 2011), além de afetar a absorção de nutrientes pelo intestino (ALJEDANI, 2017).

Os efeitos deletérios do Vertimec® 18 EC foram investigados nas espécies *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811) e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811). Ambas são nativas do Brasil e possuem características favoráveis ao seu uso na produção de alimentos e estão sendo estudadas para auxiliarem a produção de morango de Bom Repouso (MG).

A *M. scutellaris* ocorre naturalmente na zona da mata do litoral nordestino (NOGUEIRA-NETO, 1970). Embora os estudos ainda estejam buscando conhecer a totalidade das plantas com interesse agrícola que esta espécie poliniza, sabe-se que é promissora para a criação racional, com potencial para a polinização agrícola em diversos cultivos, como abacate, açaí, guaraná e melancia (INSTITUTO BRASILEIRO

DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA, 2012).

A espécie *T. angustula* poliniza muitas plantas de interesse comercial, a exemplo do morango (*Fragaria x ananassa*) e umbu (*Spondias tuberosa*) (IBAMA, 2012), como também é atraída pelas flores de alecrim-do-campo, (*Bidens segetum*), copaíba (*Copaifera langsdorffii*), entre outras (ALEIXO *et al.*, 2014).

Como existe um campo promissor no sentido de utilizar as abelhas nativas sem ferrão na melhoria da produção de morango, e considerando os efeitos do agrotóxico citado, há a necessidade de correlacionar sua ação sobre *M. scutellaris* e *T. angustula*, de modo que medidas mitigadoras possam ser adotadas nestas áreas agrícolas para garantir a presença destes polinizadores ou melhorar a relação planta-inseto-inseticida para níveis menos nocivos.

2. Objetivos

Com o levantamento do estado da arte acerca do problema a ser enfrentado, o objetivo geral do estudo foi avaliar os efeitos de toxicidade aguda (CL₅₀), tempo letal (TL₅₀) e toxicidade residual foliar (TR₂₅) do inseticida Vertimec® 18 EC para as abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula* nas estações do verão e inverno, a partir de três objetivos específicos:

1. Avaliar as diferenças de sensibilidade das abelhas forrageiras das espécies *M. scutellaris* e *T. angustula* ao serem expostas oralmente ao agrotóxico Vertimec® 18 EC;
2. Avaliar o tempo de letalidade das abelhas forrageiras das espécies *M. scutellaris* e *T. angustula* ao serem expostas oralmente ao agrotóxico Vertimec® 18 EC;
3. Avaliar a sensibilidade das abelhas forrageiras da espécie *T. angustula* quando em contato com resíduos dos agrotóxicos Vertimec® 18 EC presente nas folhas do feijão-preto (*Phaseolus vulgaris*).

3. Fundamentação teórica

3.1 Serviços Ecosistêmicos: definição e tipos

O termo serviço ecossistêmico pode ser conceituado através de uma linha antropocêntrica, ou seja, centrando na figura humana (DAILY, 1997; DALY; FARLEY, 2004; DE GROOT *et al.*, 2002; FARLEY, 2012).

A categorização desses serviços iniciou-se em 2001 com a condução da Avaliação Ecosistêmica do Milênio (MILLENIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT – MEA, 2005). O projeto avaliou como as mudanças nos ecossistemas afetam o bem-estar humano, além de criar uma fundamentação, a partir de uma base científica, que assegurasse a conservação e o uso sustentável dos ecossistemas, contribuindo com o bem-estar humano e a ligação entre ambos (MEA, 2005).

Nesta avaliação, os serviços dos ecossistemas foram definidos como benefícios que o homem obtém dos mesmos e categorizados em: provisão (alimentos, água, madeira e fibras), reguladores (afetam climas, inundações, doenças, resíduos e a qualidade da água), culturais (vantagens recreacionais, estéticos e espirituais), além de suporte (como formação do solo, fotossíntese e ciclo de nutrientes) (MEA, 2005).

3.1.1 A polinização como serviço ecossistêmico

A polinização, no seu cerne, dá o suporte à existência a outros serviços: por manter a variabilidade genética dos ecossistemas e todas suas funções; com o fornecimento de frutos, sementes, entre outros e se relacionando com o conhecimento tradicional (IPBES 2016; COSTANZA *et al.*, 2017).

3.2 A biologia da polinização

A polinização é o fluxo de pólen entre os órgãos reprodutivos feminino e masculino de uma planta, permitindo a fertilização e a reprodução (CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS - CGEE, 2017), que pode ser do tipo autopolinização - quando a flor apresenta os dois órgãos reprodutivos e possui a capacidade de utilizar o próprio pólen produzido para reprodução, o que acarreta em uma menor variabilidade genética entre os indivíduos da própria espécie, logo menor

tolerância as modificações nos ambientes que estão presentes (VIEIRA, 2014) - e a polinização cruzada, quando ocorre transferência de pólen entre os órgãos reprodutivos de indivíduos diferentes da mesma espécie.

Este tipo de polinização aumenta a recombinação gênica, possibilitando descendentes com maior capacidade de resistir a predação, de colonizar diferentes áreas, evita a homozigose e a presença de genes com carga deletéria e a divisão de recursos entre os indivíduos envolvidos nesse processo (RECH *et al.*, 2014).

3.2.1 Agentes polinizadores e seu papel no fenômeno

Na polinização cruzada, o fluxo de pólen pode ser realizado por agentes polinizadores que favorecem este processo, sendo os animais considerados muito eficientes no transporte de pólen (FERRI, 1999) e dentro desta categoria, os insetos foram, provavelmente, os primeiros transportadores de pólen e os que apresentam maior quantidade de espécies envolvidas nesse processo. A maioria possui características como, o desenvolvimento de maior sensibilidade olfativa às fragrâncias florais, que permitem uma maior eficácia à polinização. (ATTENBOROUGH, 1995).

A diversificação dos insetos acompanhou as das angiospermas, pois provavelmente o auxílio na polinização permitiu uma maior variabilidade genética dentro da mesma espécie e dentre esses insetos, as abelhas são as mais importantes, pois evoluíram no seu corpo, pêlos que favorecem esse transporte e uma comunicação entre outras abelhas para localizar a florada (LIMA, 2000; CGEE, 2017). As abelhas são responsáveis pela visita de 90% das culturas agrícolas, frente às moscas que colaboram com 30% e os vertebrados com cerca de 6% (CGEE, 2017).

3.2.1.1 As abelhas como agentes polinizadores

A inter-relação entre abelhas e plantas é notada na evolução através do surgimento de características específicas, no caso da planta, para atrair os visitantes, o desenvolvimento de diferentes disponibilizações de recursos, coloração, produção de néctar ou óleos florais (PROCTOR *et al.*, 1996; ENDRESS, 1998), e no caso das abelhas por apresentarem adaptações morfológicas para coleta e transporte de pólen e néctar (MICHENER, 2000). Segundo este último autor, enquanto as abelhas dependem

dos recursos provenientes das plantas, especificamente das flores, para garantir a sobrevivência da colônia, as plantas dependem delas para a polinização cruzada e aumentar a variabilidade gênica (SOUZA *et al.*, 2007). Isso mostra a interdependência desses dois elementos, reforçando a adaptabilidade e eficiência das abelhas (FREITAS; SILVA, 2015; BOMFIM *et al.*, 2017).

Na literatura, o foco do estudo dessa relação permeia quase que exclusivamente com as abelhas *Apis mellifera*, e apesar da sua reconhecida importância, dentro da mesma família, há também as abelhas nativas ou indígenas que, como a *Apis*, são produtoras de mel, altamente sociais e encontradas em grande parte das regiões pan e neotropical, (NOGUEIRA-NETO, 1997) que tem sua importância por polinizarem grande parte das angiospermas (ROUBIK, 1989).

3.3 Abelhas nativas: contextualização

As abelhas pertencem à Classe Insecta, à Ordem Hymenoptera, Subordem Apócrita, Superfamília Apoidea e Família Apidae. Dentro da Subfamília Apinae existem Tribos, dentre elas a Tribo Apini, que inclui as abelhas *Apis*, a Tribo Meliponini, que inclui todas as abelhas nativas do gênero *Melipona* e as trigoniformes.

Conhecidas também como abelhas indígenas, as abelhas nativas sem ferrão se configuram em relação ao aspecto comportamental, como solitárias ou eussociais (formam colônias) (MICHENER, 1974) e além do processo de co-evolução inseto-planta, apresentam o ferrão atrofiado e algumas características apresentadas a seguir, diferenciando os gêneros presentes na Tribo Meliponini.

3.3.1 Caracterização morfológica das abelhas do gênero *Melipona* e trigoniformes

De acordo com Oliveira e colaboradores (2013), as abelhas da tribo Meliponini podem ser caracterizadas morfológicamente da seguinte forma:

- *Melipona*

Apresentam “...rainhas fisogástricas, geralmente, iguais ou menores que as operárias e machos (em especial na largura do tórax), frequentemente produzidas e criadas a partir de células de cria normais (castas predeterminadas no ovo pela segregação genética, ou mecanismo genético-alimentar). Exclusivamente Neotropicais...”.

- **Trigoniforme**

Apresentam “...rainhas virgens com maior tamanho corpóreo do que as operárias e machos, com um tórax notadamente mais largo, criadas a partir de células maiores (células reais) ou de casulos reais. Distribuição pantropical...”.

3.3.2 Organização social dos gêneros que compõem a Tribo Meliponini

a) Castas

As abelhas são divididas em castas para a divisão das funções dentro da colmeia tendo diferentes aspectos para cada tipo dentro da Tribo Meliponini.

- *Melipona*

Tem-se dois sexos, fêmea e macho, em que as primeiras tem origem de ovos fecundados enquanto o segundo, de ovos não fecundados que podem ter sido produzidos pela rainha ou operárias (WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

A figura central dentro da colônia é a rainha e quando fecundada pode ser denominada como poedeira e fisogástrica e quase sempre há apenas uma, com raras exceções nas espécies nesse gênero. Tem como função a postura dos ovos e integridade da colônia, e caso haja necessidade de substituição ou até mesmo para a enxameação para formação de uma nova colônia, na colmeia há presença de rainhas não fecundadas, chamadas de virgens ou princesas (WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

. Fisicamente podem atingir o tamanho das operárias e dos machos e surgem conforme um mecanismo genético-alimentar (KERR, 1948) já que todos os indivíduos são criados em células de cria de mesmas dimensões.

Os machos presentes tem como principal função a cópula com as rainhas virgens que podem ser identificados como os indivíduos sem a corbícula no terceiro par de pernas, presença do escapo mais curto e largo e as mandíbulas menores (OLIVEIRA *et al.*, 2013; WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

Os organismos quantitativamente majoritários são as operárias que realizam todos os trabalhos para manter a existência da colônia: desde cuidado com a cria até a defesa e coleta dos recursos alimentares (NOGUEIRA-NETO, 1997; ROUBIK, 2006).

- **Trigoniforme**

A função de cada indivíduo se assemelha com os meliponíneos, com diferenças na determinação do nascimento de uma rainha. Para as trigoniformes, as futuras rainhas são produzidas em células de tamanho maior que as comuns, sendo que a determinação de castas se baseia em quanto às larvas se alimentam mais com a geleia oferecida pelas operárias (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

b) Divisão de trabalho

A divisão de trabalho é relacionada à idade, desenvolvimento fisiológico das abelhas e necessidades da colônia (WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

Após saírem dos discos de criam, as abelhas realizam a autolimpeza, mas praticamente permanecem imóveis no local. Passados alguns dias, as operárias participam da construção das células de cria, são suporte no processo de postura e aprovisionam os alvéolos de cria (WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

A partir do 14º dia fazem a limpeza interna e após o 25º dia são responsáveis por proteger a entrada da colmeia, manipular os recursos florais, garantir a ventilação interna e por buscar externamente pólen, néctar, barro, resina e água (KERR *et al.*, 1996).

3.3.3 *Melipona scutellaris* e *Tetragonisca angustula* como objetos de estudo

A abelha nativa *M. scutellaris* conhecida popularmente como uruçú do Nordeste (uruçú-nordestina ou uruçú-verdadeira), é uma abelha dócil que habita a zona da mata do litoral baiano e nordestino (SCHWARZ, 1932; LAMARTINE, 1962; NOGUEIRA-NETO, 1970; OLIVEIRA *et al.*, 1986).

Em comparação com as demais abelhas, apresenta um porte avantajado, produção de mel expressiva e de fácil criação (A ABELHA URUÇÚ, 2004). Sobre seu mel, é considerado medicinal em grande parte da zona rural nordestina, com estudos apontando sua potencialidade de ação antimicrobiana (A ABELHA URUÇÚ, 2004).

A abelha nativa *T. angustula* é uma abelha trigoniforme conhecida como jataí. Apresenta porte pequeno e se encontra em grande parte do território brasileiro, em altitudes acima de 500m (MORADO; LORENZON, 2014). São abelhas mansas e também de fácil criação (KLEINERT; FONSECA, 1995; MALAGODI-BRAGA; KLEINERT, 2004) com uma produção de mel de excepcional qualidade (GODÓI, 1989).

Tem comportamento generalista no seu habitat reforçando seu papel na polinização, principalmente em relação a flores não polinizadas pelas *A. mellifera* (MORADO; LORENZON, 2014). Além de desenvolverem papel na manutenção de comunidades de plantas e animais, em ecossistemas tropicais são responsáveis pela polinização de por 30 a 80% das plantas desses biomas (KERR *et al.*, 2001).

Uma vez que as abelhas são dependentes dos produtos das plantas (néctar, pólen, resinas), sendo que muitas destas fontes se encontram nas lavouras, elas podem ser contaminadas por agrotóxicos por meio de diferentes vias de exposição (PORRINI *et al.*, 2003; POHL, 2009), marcando sua importância para o biomonitoramento que em resumo avalia os efeitos dos poluentes a partir de organismos vivos, os bioindicadores (KLUMPP *et al.*, 2001).

Na questão das abelhas atuando como bioindicadores de qualidade ambiental, muitos estudos já apontam a eficiência na utilização de produtos da abelha *A. mellifera* (BALESTRA *et al.*, 1992; FERNÁNDEZ *et al.*, 1994; LEITA, 1996; KEVAN, 1999; CONTI; BOTRÉ, 2001; PRZYBYLOWSKIA; WILCZYNSKA, 2001; BOGDANOV, 2003; CELLI; MACCAGNANI, 2003; PORRINI *et al.*, 2003; BOGDANOV, 2006; TUZEN *et al.*, 2007; PERUGINI *et al.*, 2011; LAMBERT *et al.*, 2012). Sendo que os

estudos na área praticamente centram com a temática: agrotóxicos (PANSERI *et al.*, 2014; CHAUZAT *et al.*, 2011).

A eficiência para o biomonitoramento se dá porque as abelhas operárias, durante o forrageamento em busca de recursos florais, entram em contato pelo ar contendo poluentes que aderem aos pelos e por todo corpo; na coleta de néctar e pólen que podem estar contaminados por um material particulado via ar ou via solo e água contaminados ou por uso de produtos por aplicação humana que são transportados até o interior das colônias (PORRINI *et al.*, 2003).

Apesar de décadas de estudo de abelhas como biondicadores, ainda a espécie *A. mellifera* é a mais utilizada, provavelmente por conta de ser mais difundida na apicultura para produção comercial de mel em muitas áreas do mundo (MINUSSI; ALVES-DOS-SANTOS, 2007). Porém, deve-se considerar o uso das abelhas nativas sem ferrão para o biomonitoramento por conta da sua ampla distribuição geográfica, fácil aclimatação, serem generalistas quanto às plantas visitadas, grande diversidade, docilidade, e, portanto, de fácil manipulação de suas colônias, e principalmente pela polinização (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Podem ser citadas a *M. scutellaris* por se correlacionar com as alterações da estrutura do ambiente e com a diversidade de outros organismos (BROWN; ALBRECHT, 2001), mostrando sua sensibilidade às mudanças ecológicas referentes não apenas a estrutura, mas a composição da vegetação; resíduos de moléculas agrotóxicos e poluentes nas plantas, sendo considerada uma das melhores ferramentas para avaliar a qualidade dos ecossistemas, em áreas de mineração, de agricultura, ou urbanas (OLIVIER *et al.*, 2012).

Outra abelha nativa que também tem seu uso indicado é a *T. angustula* por conta da ampla distribuição geográfica por toda a América Latina; existência de produtos limpos, sem precisar passar por processos para o consumo humano; colônias com facilidade em multiplicação e aclimatação e por serem muito generalistas na visita a flores (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Tanto que foram selecionadas para serem utilizadas para a avaliação de risco de agrotóxicos por atenderem os critérios estabelecidos conforme mostra a figura 1, além de atingirem as maiores pontuações indicados na figura 2 (IBAMA, 2018).

Figura 1. Critérios utilizados para construção da matriz.

Critério Principal	Critério Secundário	Importância
1. Distribuição Geográfica		Avaliar o grau de distribuição da espécie nos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal. Quanto mais vasta a distribuição geográfica de uma espécie, maiores as chances de que ela possa ser um bom organismo-teste.
2. Associação com os ambientes agrícolas	2.1) Ocorrência nas culturas	Avaliar o número de registros da espécie nas 40 culturas agrícolas. Assume-se que uma espécie presente em várias culturas tem probabilidade maior de exposição a agrotóxicos do que aquela presente em poucas culturas.
	2.2) Abundância	Avaliar a abundância: - nas culturas propriamente ditas; - nas espécies de plantas invasoras presentes no entorno da área agrícola; - na vegetação natural, ou seja, nas outras espécies de plantas que ocorrem fora da área agrícola. Quanto mais abundante nas culturas, maior a probabilidade de exposição da espécie.
3. Importância como polinizadores	3.1) Para as plantas cultivadas	Avaliar o grau de dependência da polinização ou o aumento de produtividade da cultura quando polinizadores estão presentes
	3.2) Para a vegetação natural	Avaliar o grau de dependência do serviço de polinização para a manutenção da vegetação
4. Recursos coletados nas culturas	4.1) Néctar	Avaliar quais são os principais recursos coletados
	4.2) Pólen	
	4.3) Óleos florais	
	4.4) Resina	
5. Aspectos Biológicos	5.1) Nidifica dentro da área de coleta	Avaliar a exposição por outras vias, tais como contato com solo contaminado
	5.2) É uma espécie manejada?	Avaliar a possibilidade da espécie ser criada e mantida em laboratório
	5.3) Tamanho das colônias	Avaliar a disponibilidade de organismos para testes
6. Importância econômica	6.1) Produção de mel, própolis, pólen e geléia real	Avaliar o ganho econômico que pode ser obtido com os produtos da colônia.

Fonte: IBAMA (2018). Online.

Figura 2. Critérios e pontuações utilizados para a seleção de espécies de abelhas para análise de risco de agrotóxicos.

Critérios de seleção	Pontuação*				
	0	1	2	3	4
Sociabilidade	Solitária	Social	-	-	-
Método de coleta	-	Armadilhas iscadas com essências	Armadilhas "pan-trap"***	Coleta direta na flor	Coleta direta na flor e "pan-trap"
Distribuição geográfica	-	Ocorre em 1 a 10 estados	Ocorre em 11 a 20 estados	Ocorre em 21 a 27 estados	-
Ocorrência nas culturas	Ocorre em 1 a 3 culturas	Ocorre em 4 a 10 culturas	Ocorre em 11 a 20 culturas	Ocorre em 21 a 30 culturas	Ocorre em 31 a 40 culturas
Abundância nas culturas agrícolas	-	Baixa	Média	Alta	-
Abundância nas espécies de plantas invasoras	-	Baixa	Média	Alta	-
Abundância na vegetação natural	-	Baixa	Média	Alta	-
Polinizador de plantas cultivadas	-	Baixa	Média	Alta	-
Polinizador em áreas de vegetação natural	-	Baixa	Média	Alta	-
Recursos coletados nas culturas agrícolas (néctar, pólen, óleos florais e resina)	Não é coletado	É coletado	-	-	-
Nidifica dentro da área de coleta	Não nidifica	Nidifica	-	-	-
É uma espécie manejada	Não é manejada	Sim, mas com método ainda a ser padronizado	Sim, com método bem estabelecido e padronizado	-	-
Tamanho das colônias	Não é colonial	Colônias pequenas, com até 500 indivíduos	Colônias medianamente populosas, em torno de 500 a 2.000 indivíduos	Colônias populosas, com mais de 2.000 indivíduos	-
Importância econômica	Não identificada	Tem importância	-	-	-

* Na ausência de registros na literatura, baseou-se em informações de especialistas. Para os critérios sem nenhuma informação na literatura ou de especialistas, preencheu-se com L, que significa Lacuna de Conhecimento.
 ** Pan-trap = pote de 240 ml branco ou colorido (azul ou amarelo) contendo água e gotas de detergente.

Fonte: IBAMA (2018). Online.

Na figura 3, o resultado da avaliação realizado, resultando nas espécies de abelhas nativas selecionadas para avaliação de risco de agrotóxico.

Figura 3. Espécies de abelhas sociais e solitárias prioritárias para análise de risco de agrotóxicos.

Espécies Sociais	Pontuação final
<i>Trigona spinipes</i>	28
<i>Tetragonisca angustula</i>	24
<i>Nannotrigona testaceicornis</i>	22
<i>Melipona scutellaris</i>	21
<i>Melipona quadrifasciata</i>	20

Espécies Solitárias	Pontuação final
<i>Xylocopa frontalis</i>	20
<i>Xylocopa grisescens</i>	19
<i>Eulaema nigrita</i>	18
<i>Centris aenea</i>	17
<i>Centris tarsata</i>	
<i>Exomalopsis analis</i>	16
<i>Epicharis flava</i>	

Fonte: IBAMA (2018). Online.

Na figura 4, os principais prós e contras das abelhas selecionadas com destaque na *M. scutellaris* e *T. angustula*.

Figura 4. Principais prós e contras das abelhas selecionadas para análise de risco.

Espécies	Distribuição geográfica	Prós	Contras
<i>Melipona scutellaris</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Biologia bem conhecida; • Facilidade de criação e manejo; • Colônias populosas. • Testes de toxicidade em laboratório e campo podem ser realizados utilizando protocolos padronizados; • Colônias disponíveis comercialmente. 	<ul style="list-style-type: none"> • Distribuição geográfica restrita; • Métodos para testes de toxicidade com larvas disponíveis mas não padronizados.
<i>Tetragonisca angustula</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Facilidade de criação e manejo; • Colônias populosas; • Ampla distribuição geográfica; • Média ocorrência nas culturas agrícolas (n = 19). • Colônias disponíveis comercialmente; • Abelha muito pequena. 	<ul style="list-style-type: none"> • não há protocolos para estudos de laboratório, semi campo ou campo.

Fonte: Adaptado de IBAMA (2018). Online.

3.4 Estressor Ambiental

a) Agrotóxicos

3.4.1 Definição e classificação

Os agrotóxicos são regulamentados pelo Decreto Nº 24.114/1934 (BRASIL, 1934) que estabeleceu diretrizes e obrigações para a produção, importação, exportação, comercialização e uso no país. Posteriormente, a Lei nº 7802/1989 (BRASIL, 1989) colocou mudanças significativas para a regulação com a inserção do Ministério do Meio Ambiente (MMA) no processo de avaliação e registro dos agrotóxicos no Brasil, sendo que atualmente junto a este órgão, agora, especificado pelo IBAMA, tem-se o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para atuar no registro e liberação.

A Lei 7.802 de 1989 (BRASIL, 1989), em seu artigo 2 define que agrotóxicos são:

[...] os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou

implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos [...] substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

A classificação dos agrotóxicos pode variar desde sua estrutura química das substâncias ativas, os efeitos à saúde humana e ao meio ambiente e contra qual organismo-alvo atuam (AGROFIT, 2020). Considerando esta última classificação, quando o agrotóxico atua contra insetos, é denominado inseticida (PASCHOAL, 1979).

b) Inseticidas

De acordo com BRASIL (1976), em seu artigo 3º, os inseticidas são substâncias “destinadas ao combate, à prevenção e ao controle dos insetos em habitações, recintos e lugares de uso público e suas cercanias”.

Os inseticidas são os principais responsáveis pela redução da população dos insetos polinizadores, principalmente as abelhas (POTTS *et al.*, 2010), pois, apesar de não serem os organismos alvo, fazem o forrageamento nas áreas agrícolas pulverizadas pelos mesmos (IBAMA, 2012), e até mesmo fatores, humanos ou não, facilitam que o ambiente próximo a área pulverizada seja contaminado (ADAPAR, 2020).

As abelhas entram em contato com os inseticidas por: partículas dos agrotóxicos que ficam depositadas nas flores, ingestão (através do pólen e néctar contaminados) e fumigação (partículas suspensas do agrotóxico na área agrícola) e, seus efeitos podem ser a longo prazo, como danos no funcionamento da colônia e diminuição da longevidade dos indivíduos, ou mesmo a morte devido à toxicidade aguda (MALASPINA *et al.*, 2008; IBAMA, 2012).

Os inseticidas são classificados em vários grupos químicos, sendo que neste trabalho foi dada ênfase à classe avermectina.

- **O grupo químico Avermectina e seu sítio de ação nas abelhas**

As avermectinas foram descobertas em 1975 a partir de um microorganismo denominado *Streptomyces avermitilis* que foi isolado de uma amostra de solo japonês

com atividade anti-helmíntica (CAMPBELL, 1989; ÔMURA, 2008). São uma família de lactonas macrocíclicas, consistindo principalmente de quatro componentes principais, A_{1a}, A_{2a}, B_{1a}, B_{2a}, e quatro homólogos menores, A_{1b}, A_{2b}, B_{1b}, B_{2b} (LASOTA; DYBAS, 1991).

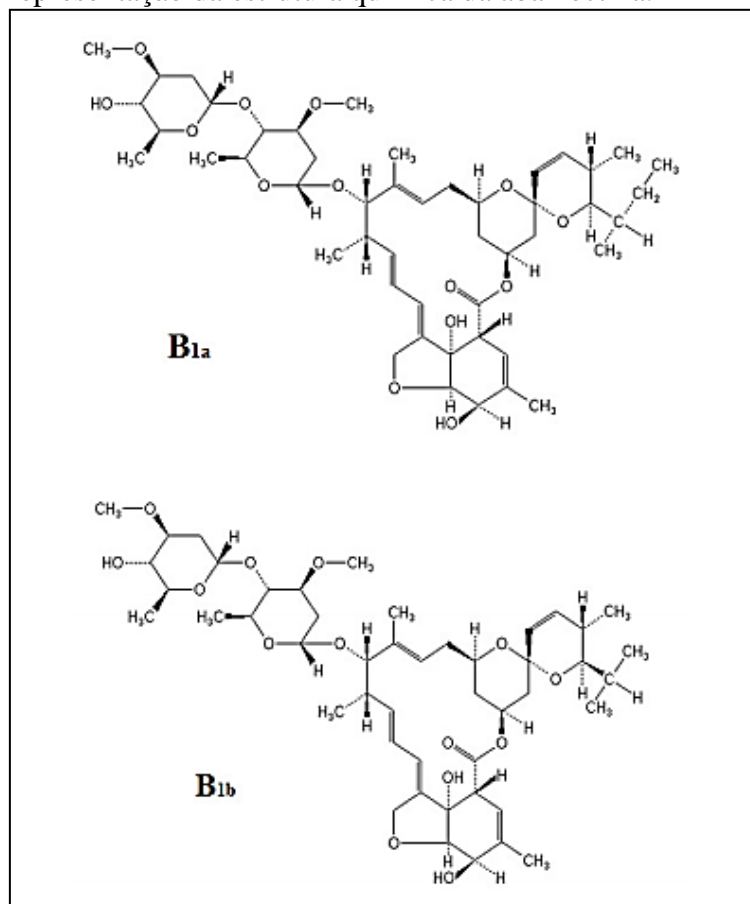
A junção neuromuscular do inseto funciona através das interações de um lado excitador e outro inibidor que dependem do ácido gama-aminobutírico ou GABA. A avermectina inibe o sistema nervoso central devido ao aumento da permeabilidade da membrana da célula nervosa para o íon Cl⁻ que tem simula o efeito “calmante” do GABA. Assim, a transmissão é bloqueada, e o inseto é imobilizado até a sua morte (WOLSTENHOLME, 2010; BARILLI *et al.*, 2019).

Abamectina

É um inseticida não sistêmico, ou seja, não é absorvido pelas raízes, folhas ou translocado para outra parte da planta (SIMON-DELSO *et al.*, 2014), tem como princípio ativo a avermectina, sendo formada por uma mistura de avermectina B_{1a} (pelo menos 80%) e avermectina B_{1b} (até 20%). Semelhantes nas propriedades biológicas e toxicológicas formam um composto com alta massa molar, de baixa solubilidade em água e solúvel em solventes orgânicos (BORGES *et al.*, 2008).

A estrutura química da abamectina pode ser vista na Figura 5. Sua atuação contra parasitas se dá a capacidade da substância atravessar a barreira hematoencefálica agindo no sistema nervoso, causando a paralisia do organismo (SOUZA *et al.*, 2003).

Figura 5. Representação da estrutura química da abamectina.



Fonte: Barbosa (2012).

3.5 Avaliação ambiental de agrotóxicos

a) Requisitos legais no Brasil e na EU

Brasil

A Lei Federal nº 7.802/1989 (BRASIL, 1989) estabelece que os agrotóxicos somente poderão ser registrados para comercialização se atendidas as diretrizes e exigências individuais de três órgãos federais os quais atuam no campo da agricultura, da saúde e do meio ambiente.

No trato com o meio ambiente e os efeitos destes produtos sobre os ecossistemas, cabe ao Ministério do Meio Ambiente realizar a avaliação ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins, exatamente como determina o inciso II, Artigo 7º do Decreto nº 4.074/2002 (BRASIL, 2002), que regulamenta a referida Lei.

Neste aspecto, o inciso VIII Artigo 2º do Anexo I do Decreto nº 8.973/2017 (BRASIL, 2017) determina que o IBAMA tenha a competência para realizar a análise, registro e controle de agrotóxicos, seus componentes e afins. Impedindo que produtos dotados de características proibitivas sejam produzidos, importados, exportados, comercializados e utilizados no Brasil, assim como, para contribuir para a utilização mais segura e de menor impacto ao ambiente e a organismos não-alvo, no caso dos produtos passíveis de obtenção de registro (IBAMA, 2021).

Com esta atribuição, o IBAMA segue os procedimentos de avaliação de acordo com as orientações da Portaria Ibama nº 84, de 15/10/1996 (MMA, 1996), a qual define que sejam feitas avaliações em duas etapas: Avaliação do Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) de Agrotóxicos e Afins e Avaliação de Risco Ambiental (ARA).

O sistema de classificação do PPA pode ser dividido em três etapas sequenciais:

1. Avaliação e validação de estudos pré-definidos e os resultados classificados em fatores de 1 a 4 de acordo com tabelas específicas para cada;
2. Agrupamento dos diferentes parâmetros e, novamente, classificados em fatores de 1 a 4, de acordo com tabelas específicas para cada parâmetro;
3. Soma dos valores correspondentes a cada classificação, obtendo o resultado final quanto ao PPA, que pode gerar os seguintes resultados divididos em Classes:

Classe I - Produto **ALTAMENTE PERIGOSO** ao meio ambiente;

Classe II - Produto **MUITO PERIGOSO** ao meio ambiente;

Classe III - Produto **PERIGOSO** ao meio ambiente;

Classe IV - Produto **POUCO PERIGOSO** ao meio ambiente.

Esta classificação permite que sejam adotadas frases de advertência no rótulo e na bula para produtos que obtenham classificação mais restritiva (Classe I) (IBAMA, 2021).

Já o procedimento ARA leva em consideração não apenas aspectos físicos e físico-químicos dos ingredientes ativos e seus componentes e afins, como é feito no PPA, mas aprofunda o estudo dos efeitos no ambiente e nos organismos não alvo, a saber: o modo e a época de aplicação do produto, as doses, a cultura, o clima, e outros fatores (IBAMA, 2021). Tal avaliação permite tomadas de decisões mais precisas sobre as restrições e orientações de cada produto para que tenham menor efeito nocivo ao

ambiente.

Até o presente momento, apenas os critérios para a avaliação de riscos para abelhas foram estabelecidos sistematicamente pelo IBAMA, com a publicação da Instrução Normativa nº 02/2017 (IBAMA, 2017a) e do Manual de Avaliação de Risco Ambiental de Agrotóxicos para Abelhas (IBAMA, 2017b).

União Europeia

Apenas em caráter comparativo, a regulamentação dos pesticidas aplicados nos Estados-Membros da União Europeia (UE) baseia-se igualmente em orientações legais: como é executada, documentos de orientação, práticas administrativas e científicas (ROBINSON *et al.*, 2020). O processo é descentralizado porque a autorização do ingrediente ativo do agrotóxico se dá a nível UE e seus produtos a nível de Estados-Membros/nacional (ROBINSON *et al.*, 2020).

Todo o processo se inicia quando um requerente solicita pedido de autorização ou renovação (do registro) de um ingrediente ativo, já incluso todos os testes e estudos de segurança necessários, a um Estado-Membro que analisará como "relator designado".

O mesmo elabora um projeto inicial de relatório de avaliação ou relatório de avaliação de renovação, verificando se o ingrediente ativo cumpre os critérios de aprovação previstos no regulamento de pesticidas que inclui uma revisão da literatura de estudos publicados nos últimos 10 anos que analisam os efeitos secundários do ingrediente ativo e seus metabólitos na saúde, no meio ambiente e em espécies não-alvo (ROBINSON *et al.*, 2020; EFSA, 2021).

Todos os Estados-Membros, requerente e população são consultados e a European Food Safety Authority (EFSA) faz uma revisão final pelos pares e conclui se o ingrediente ativo realmente cumpre os critérios de aprovação (ROBINSON *et al.*, 2020; EFSA, 2021). A conclusão é repassada para a Comissão Europeia que apresenta uma proposta de autorização aos representantes dos Estados-Membros no Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed (PAFF Committee) que votam pela aprovação ou rejeição (ROBINSON *et al.*, 2020; EFSA, 2021). Se houver maioria, a autorização é dada em nível UE, e em seguida, cada Estado-Membro procede então a uma avaliação própria autorizando ou não o ingrediente ativo para o mercado interno (ROBINSON *et al.*, 2020; EFSA, 2021). As substâncias ativas são aprovadas por um

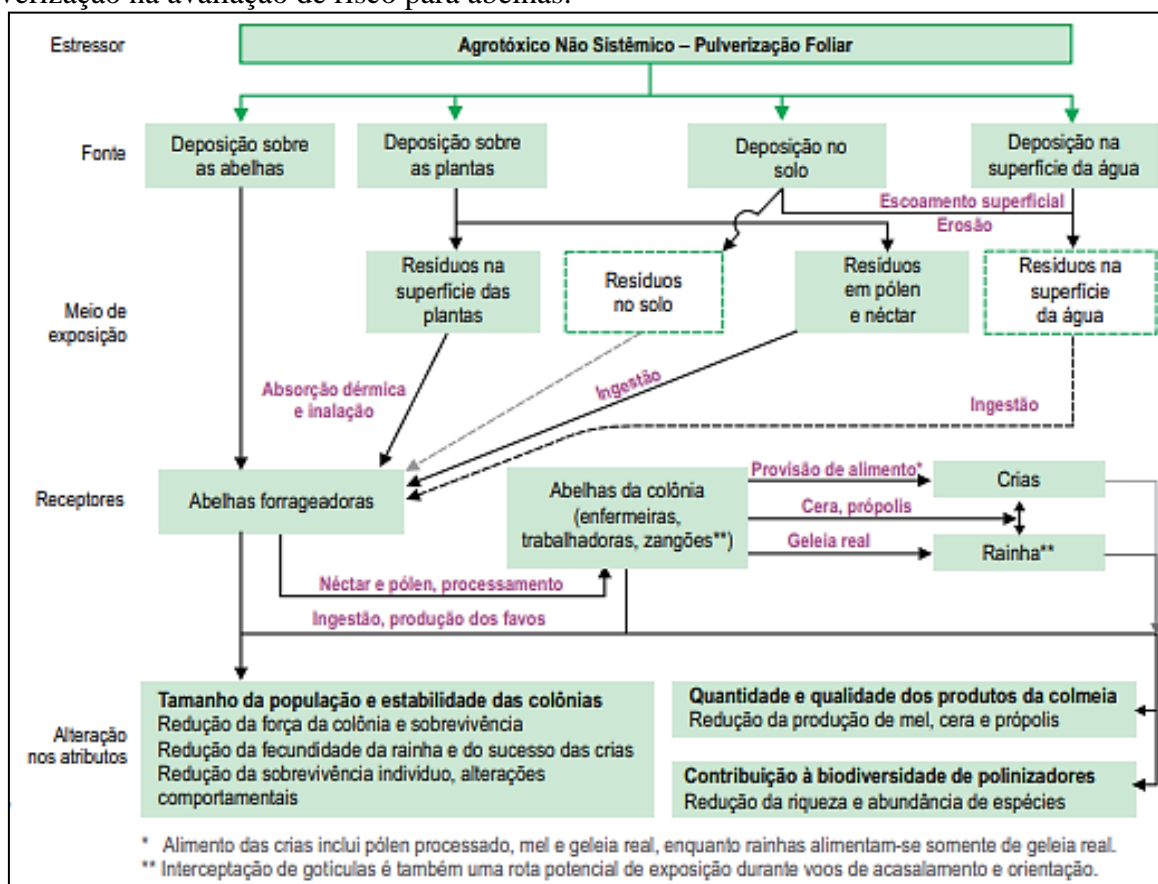
período de até 15 anos e antes da data de validade o requerente pode solicitar a renovação (EFSA, 2021).

3.6 Avaliação de risco ambiental de agrotóxicos no cenário brasileiro: abelhas como organismo teste

A avaliação de risco permite avaliar os resultados para entender as relações entre um estressor e seus efeitos ecológicos para uma tomada de decisão. O processo é sequencial e se inicia com uma hipótese de risco, selecionando parâmetros adequados de avaliação e elaborando um modelo conceitual que represente a hipótese de risco. Definido o cenário de exposição, é possível identificar fontes, rotas, quantidade, concentrações do estressor no meio ambiente e quais organismos podem ser expostos, contribuindo com a construção da hipótese de risco.

No caso deste estudo, tem-se as possíveis rotas de exposição da abamectina, como mostra a figura 6, que se relacionam com o estudo atual. No caso, apenas pela pulverização foliar do agrotóxico é possível contaminar não só a planta, mas também o solo e a água. As abelhas forrageiras ao entrarem em contato com a espécie vegetal pulverizada pela substância, transportam o material contaminado até a colônia, afetando as operárias das demais funções até alcançar a rainha, o que, desestabilizaria toda aquela sociedade.

Figura 6. Modelo conceitual genérico para agrotóxicos não sistêmicos aplicados por pulverização na avaliação de risco para abelhas.



Fonte: IBAMA (2017b). Online.

Como diferentes fatores podem ser considerados para determinar o risco, definiram-se duas variáveis para analisar a sensibilidade das abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula* ao agrotóxico Vertimec® 18 EC: os seus resíduos nas plantas e a estação climática.

- **Resíduos de agrotóxicos nas plantas**

No estudo de Finlayson e MacCarthy (1973) há quatro vias de origem para os resíduos de agrotóxicos presentes nas plantas: contaminação acidental/incidental, derramamento de agrotóxico que adere nas partículas de solo, volatilização ou por poeira/ spray levado pelo vento.

Ainda para Finlayson e MacCarthy (1973) alguns fatores determinam a quantidade de resíduos nas plantas: organismo-alvo para ação, quem aplica, formulação,

método de aplicação, onde o agrotóxico se deposita na planta após ser aplicado e clima; já outros fatores são mais sutis nos efeitos dos resíduos nas plantas: as próprias características da planta e aquelas relacionadas ao solo, como tempo, penetração, absorção, translocação e difusão.

- **Biologia das abelhas e o clima**

Em regiões temperadas, as temperaturas menores podem desencadear o processo de hibernação das abelhas em uma colônia, ou mesmo desencadear mudanças comportamentais e fisiológicas individuais, como redução da atividade, mudanças de perfis hormonais, aumento de estoque alimentar e longevidade, bem como no nível de colônia, como a suspensão da postura da rainha (DÖKE *et al.*, 2015). Em regiões não-temperadas, há a existência de outros fatores que contribuem para essa mudança (HEPBURN, 2011).

Na literatura, os estudos dessas mudanças se baseiam nas observações da espécie *A. mellifera*. Considerando sua presença em climas temperados, esta espécie apresenta diferentes estados sazonais, logo diferentes ações internas da colônia, como no inverno, onde se inicia a formação dos discos de cria alcançando o ápice na primavera (ALLEN; JEFFREE, 1956; SEELEY; VISSCHER, 1985; MATTILA *et al.*, 2001; GENERSCH *et al.*, 2010).

O que se tem de conhecimento na área é com base na *A. melífera*, sendo que os indivíduos da colônia apresentam diferentes tempos de vida de acordo com a estação (PAGE *et al.*, 2001) e diferenças fisiológicas que não são completamente entendidas e nem como podem interagir com outros estressores ambientais.

No entanto, tais alterações comportamentais têm sido muito pouco estudadas quando se trata de abelhas nativas sem ferrão nas áreas tropicais, porém, com variantes climáticas que oscilam entre extremos de temperaturas ao longo do ano para algumas regiões.

Preencher tais lacunas no conhecimento é útil quando a proposta é potencializar o serviço de polinização destas espécies no ambiente agrícola, e de como a interação entre fatores estressores podem afetar a colônia, como os agrotóxicos, associado, por exemplo, ao período invernal, levando a uma subproteção de um organismo já em processo de desaparecimento.

4. Materiais e métodos

4.1 Agrotóxico testado

Utilizou-se o agrotóxico Vertimec® 18 EC que apresenta ingrediente ativo abamectina (18 g L⁻¹). Este produto é fabricado pela North China Pharmaceutical Group Aino Co., Ltd e Inner Mongolia New Veyong Bio-Chemical Co., Ltd., registrado no MAPA sob nº 0618895 e comercializado pela Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

De acordo com as informações constantes no rótulo do produto, o mesmo é considerado medianamente tóxico aos seres humanos e muito perigoso ao meio ambiente. Seu uso está autorizado para os cultivos de algodão, alho, batata, café, coco, *citrus*, crisântemo, ervilha, feijão, feijão-vagem, figo, maçã, manga, melancia, mamão, melão, morango, pêsego, pera, pimentão, pepino, tomate e uva (ADAPAR, 2021).

4.2 Organismos testes

Utilizaram-se, para os bioensaios, abelhas adultas forrageiras das espécies nativas *M. scutellaris* e *T. angustula*. Ambas as espécies foram mantidas em ambiente natural no Meliponário Experimental instalado no Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA, EESC, USP) localizado no município de Itirapina-SP.

As forrageiras das espécies *M. scutellaris* e *T. angustula* foram provenientes de 14 colônias irmãs e 4 colônias não irmãs, respectivamente, sendo todas elas criadas em caixas padronizadas.

Para todos os testes foram utilizadas abelhas provenientes de colméias saudáveis conforme os parâmetros estabelecidos pelo Protocolo 213 da Organization for Economic Cooperation and Development – OECD (1998), quais sejam: ausência de parasita, rainha presente.

4.3 Bioensaios

Os bioensaios ocorreram tanto no período do verão (indicado pelos protocolos de bioensaio para as abelhas) quanto no inverno (de modo a comparar os efeitos do agrotóxico em um período não indicado). Reforça-se que o teste de toxicidade residual foliar foi aplicado apenas na espécie *T. angustula*, enquanto que os testes de toxicidade

aguda oral e tempo letal para avaliar possíveis alterações de sensibilidade em função da estação do ano, foram aplicados nas duas espécies, *M. scutellaris* e *T. angustula*.

a) Determinação da CL₅₀ oral da abamectina

O procedimento experimental para a determinação da CL₅₀ aguda oral iniciou-se com a *T. angustula* e depois com a *M. scutellaris*. Tal procedimento foi realizado de acordo com as orientações do Protocolo 213 da Organization for Economic Cooperation and Development – OECD (1998).

Foram utilizadas três réplicas com 10 abelhas/cada para cada concentração do inseticida testado, além do grupo controle. Cada réplica era composta de uma câmara de teste ou gaiola plástica descartável de 250 mL com 10 abelhas de uma mesma colônia com furos para a passagem do ar.

Bioensaios preliminares foram realizados de forma a encontrar uma faixa de concentração onde a mortalidade da amostra estivesse entre 10 e 90%. Em seguida, essa faixa de concentração foi utilizada em bioensaios definitivos para as concentrações finais.

Para a *T. angustula* foram testadas as seguintes concentrações do inseticida: 0,018000; 0,010000; 0,007500; 0,005400; 0,003600; 0,001800 e 0,000900 µg de abamectina µL⁻¹ e para a *M. scutellaris* foram testadas as concentrações: 0,000018; 0,000180; 0,001800; 0,018000 e 0,180000 mg mL⁻¹ µg de abamectina µL⁻¹.

As abelhas foram coletadas diretamente da entrada das colmeias com o auxílio de gaiolas plásticas de 250 mL contendo um alimentador do tipo tubo Eppendorf® de 1,5 mL com um furo na região inferior e contendo 1 mL de solução de mel de *Apis*/água a 60% para a *T. angustula* e 1 mL de solução sacarose/água a 50% para a *M. scutellaris*. Após a coleta, cada gaiola foi acondicionada em uma caixa escura com furos para passagem de ar. A redução da iluminação natural teve o intuito de diminuir o estresse das abelhas e possíveis mortes.

Após a coleta, foram levadas até o Laboratório de Química Analítica Ambiental e Ecotoxicologia (LAQUAAE) do Instituto de Química de São Carlos (IQSC) localizado na Universidade de São Paulo (USP) campus São Carlos, área 1, as quais foram mantidas sob aclimatação em estufa BOD, com temperatura de 28 ± 2°C e umidade relativa de 65%, com reposição alimentar.

Antes do início do teste foi garantido um jejum de 3,5 horas para as abelhas e então se procedeu à exposição com 0,4 mL de alimento contaminado com o inseticida nas diferentes doses pelo tempo de 6 horas, sendo então retirado o alimento contaminado e substituído por alimento sem contaminação, que se manteve até a finalização do teste conforme a concentração utilizada na coleta.

Cada alimentador com o alimento contaminado foi pesado antes e depois da exposição. Foram feitas leituras de mortalidade em 6 horas e em intervalos de 24 horas a partir da hora do início do teste seguindo até um máximo de 96 horas, respeitando a mortalidade do controle de até 10%.

b) Determinação do Tempo Letal (TL₅₀)

O teste de Tempo Letal é utilizado para se estabelecer o tempo letal ou tempo de vida das abelhas expostas ao agrotóxico. As abelhas adultas forrageiras das espécies *T. angustula* e *M. scutellaris* foram utilizadas. Para este teste foram adotados os procedimentos descritos no protocolo de toxicidade aguda oral de nº 213 (OECD, 1998) com adaptações descritas a seguir.

Para cada concentração, foram testadas seis réplicas mais o grupo controle, sendo cada réplica uma câmara de teste ou gaiola plástica descartável de 250 mL com 10 abelhas de uma mesma colônia. A dose do Vertimec testada foi de 0,0135 mgmL⁻¹ e que correspondeu à máxima dose recomendada no rótulo do produto e para o cultivo do morango.

A coleta das abelhas e a exposição ao inseticida seguiram os mesmos procedimentos descritos no tópico anterior. Apenas os tempos de leitura de mortalidade foram diferentes, sendo feitos em 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 12h, 15h, 18h, 21h, 24h, 30h, 36h, 48h, 72h e 96h após a exposição. Em cada tempo de leitura foram contabilizados o número de mortos e respeitando a mortalidade máxima do controle de 10%.

c) Determinação do Tempo Residual (TR₂₅)

Para a determinação do tempo residual foliar foram aplicadas as orientações constantes no protocolo OCSPP 850.3030 da Environmental Protection Agency (EPA, 2012) com adaptações descritas a seguir.

A dose do inseticida a ser testada foi definida conforme estabelece o rótulo do produto comercial Vertimec® 18 EC, optando-se por utilizar a dose máxima recomendada a ser aplicada no cultivo do morango, ou seja 0,0135 mg mL⁻¹.

Foram testadas para este valor seis réplicas, além do grupo controle. Cada réplica consistiu de uma câmara de teste ou gaiola plástica descartável de 250 mL com 25 abelhas de uma mesma colônia por gaiola.

A planta recomendada no protocolo da EPA é a alfafa (*Medicago sativa*), porém, pela dificuldade de obtenção de sementes de alfafa no estado de São Paulo optou-se por utilizar o feijão-preto (*Phaseolus vulgaris*). A vantagem de se utilizar esta espécie em comparação a outras existentes, se dá pela sua adaptabilidade a um amplo intervalo de temperatura ambiente (de 18 a 30°C), além da possibilidade de plantio em locais de inverno ameno pela sua indiferença ao fotoperíodismo (FILGUEIRA, 2008). As sementes de *P. vulgaris* foram obtidas no comércio varejista natural, de modo a se evitar sementes tratadas com agrotóxicos (KORIN Agricultura Natural®, 2020).

O teste de tempo de determinação residual tem como objetivo determinar o tempo de decaimento do efeito tóxico de um produto para a abelha após ter sido pulverizado em uma planta-teste. Para tanto, após a pulverização da planta, as abelhas são expostas à mesma em diferentes tempos de exposição ao inseticida - 3h, 8h, 24h. O teste se desenrola até que a mortalidade das abelhas seja menor que 25% e a mortalidade do controle não ultrapasse 20%. Caso não seja possível obter essa porcentagem nas primeiras horas estabelecidas pelo protocolo, o teste deverá seguir por 48h, 72h, 96h e 120h respeitando para cada tempo o pré-requisito do controle e a mortalidade buscada na amostra.

Detalhes experimentais

O experimento se iniciou com a semeadura de sete sementes de feijão-preto em cada copo plástico de 180 ml contendo terra vegetal da marca Jardpet®. As plantas permaneceram neste recipiente após a germinação. Foram preparados um total de 300 copos para cada bioensaio. Após 20 dias de germinação das sementes, 90% dos copos apresentaram material foliar suficiente para a montagem do teste.

A coleta, que ocorreu um dia antes de aplicar o inseticida nas folhas de feijão, seguiu mesmo protocolo que o do bioensaio para a determinação da CL₅₀ aguda oral. Para a pulverização das plantas foram preparados 2L da solução do inseticida,

adicionados a um pulverizador manual e aplicado sobre as plantas a uma distância de um metro. Na terceira hora após a pulverização, foram cortados pedaços das folhas de modo a conter amostras de 15g, as quais foram acondicionadas em novas gaiolas plásticas contendo um alimentador do tipo tubo Eppendorf® de 1,5 mL com um furo na região inferior com 1 mL de solução mel de *Apis*/água a 60% e furos para passagem de ar e transportadas ao LAQUAAE.

Sete gaiolas contendo as abelhas e que estavam acondicionadas na estufa foram selecionadas para o bioensaio da primeira hora do protocolo. Para a exposição, as abelhas foram anestesiadas por 15s com gás carbônico e transferidas para as gaiolas contendo as amostras das folhas contaminadas. O efeito de mortalidade foi analisado após 24h.

O mesmo procedimento foi aplicado para as folhas contaminadas após 8h e 24h, sempre com leitura de mortalidade das abelhas após 24 horas de exposição.

4.4 Análise estatística

Os procedimentos estatísticos para a determinação da CL_{50} e TR_{25} do inseticida foram realizados utilizando regressão linear, sendo que os dados foram ajustados com um parâmetro modificado usando a equação Sigmoidal, curva logística. O tempo letal (TL_{50}) foi calculado com significância $p = 0.05$ e determinada pela análise de Probit (Finney,1971). Todas as análises estatísticas realizadas utilizaram o programa OriginLab 2020 cedido pela Universidade de São Paulo.

5. Resultados e discussão

a) Toxicidade oral da abamectina sob efeito do clima

As concentrações testadas foram as mesmas para as duas estações e estão mostradas no quadro 1.

Quadro 1. Toxicidade relativa do inseticida Vertimec® 18 EC as abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula* durante o verão e inverno.

Produto	Período	Espécie	Tempo total de exposição (h)	CL ₅₀ (IC 95%) (µg i.a. /mL de dieta)
Vertimec® 18 EC (i.a. abamectina)	Verão	<i>M. scutellaris</i>	72	0,0080 (0,0139 - 0,0021)
		<i>T. angustula</i>	48	0,0014 (0,0017 - 0,0011)
	Inverno	<i>M. scutellaris</i>	-	---
		<i>T. angustula</i>	48	0,0064 (0,0038 - 0,0090)

(---): teste inválido

Fonte: Própria autora.

Do Quadro 1, observa-se uma variação de sensibilidade oral das espécies forrageiras *M. scutellaris* e *T. angustula* durante diferentes estações do ano.

No verão, comparando-se as sensibilidades das duas espécies observou-se que *T. angustula* foi 5,71 vezes mais sensível do que *M. scutellaris*, entretanto, no inverno tal comparação de sensibilidade entre as espécies ficou prejudicada uma vez que a mortalidade do controle da amostra da *M. scutellaris* nas primeiras 12h ou superava 10% ou a mortalidade da amostra nas demais concentrações atingia 100% inviabilizando o bioensaio.

Apesar disso, foi possível determinar para a *T. angustula* um valor de concentração letal 4,57 vezes superior ao obtido no verão, podendo indicar possível menor susceptibilidade aos efeitos do produto comercial.

Os resultados indicam maior resistência ao agrotóxico por parte da *M. scutellaris*: apresentou maior tempo de exposição para todos os bioensaios e ainda assim, obteve-se uma concentração 1,25 vezes maior em relação à maior obtida pela *T. angustula* (que se deu no inverno).

Estudos que relacionam a atividade das abelhas e temperatura por conta das estações do ano ainda são escassos, os existentes focam em poucas espécies com viés

comercial (KRUNIC; HINKS, 1972; RICHARDS *et al.*, 1987; BOSCH *et al.*, 2000; BOSCH; KEMP, 2003, 2004; SGOLASTRA *et al.*, 2010; PITTS-SINGER; CANE, 2011). De maneira geral, estes estudos apontam que a temperatura durante o inverno influencia na sua fisiologia, afetando a sobrevivência.

O estudo de Lemanski e colaboradores (2020) apontou diferenças na seleção contra a senescência em operárias abelhas durante as estações de primavera/outono, verão e inverno.

Os resultados das colônias mais sensíveis a esse fator se deram no inverno quando há escassez de recursos e a mortalidade extrínseca é menor, ou seja, a mortalidade da população ocorre por fatores externos à colônia, pois no verão, os recursos são abundantes e a mortalidade extrínseca é alta.

Além disso, o mesmo estudo explica que a sensibilidade da colônia ao processo de senescência é ainda maior quando a temperatura no inverno reduz a sobrevivência da ninhada, pois nesse período a produção de operárias é reduzida, então mesmo os pequenos aumentos de senescência tem efeitos na colônia. Essa diferença pode também ser explicada em como, no verão, as abelhas operárias transitam rapidamente para o estado de forrageiras, aumentando os riscos por fatores externos contribuindo com as sensibilidades em mortalidade encontradas.

Na literatura, em grande parte das regiões temperadas, o ciclo de vida da abelha *A. mellifera* consiste na fase ativa e invernal, na qual, na primeira, as abelhas operárias podem viver mais (SAKAGAMI; FUKUDA, 1968). Porém para as colônias de regiões sub e tropicais, se espera uma atividade contínua ao longo do ano todo, contudo como mencionado por Nogueira-Neto (1970), há espécies nativas que podem apresentar uma diferença na atividade durante as estações do ano e isso foi corroborado pelo estudo de Terada e colaboradores (1975) que notaram diferenças significativas na expectativa de vida da *Plebeia droryana*, espécie nativa, presente na cidade de Ribeirão Preto (SP) em relação a *A. mellifera*.

Decourtye e colaboradores (2003), em seu estudo *com Apis mellifera L.*, um dos testes foi comparar a toxicidade oral crônica por imidacloprido durante o verão e inverno que resultou em uma mortalidade, respectivamente de 17,7 e 20,5% da amostra, podendo concluir que as abelhas desta espécie, no inverno, são mais suscetíveis aos efeitos deste agrotóxico que no verão. Apesar de não ser o agrotóxico utilizado neste estudo, já se nota que a sensibilidade da *T. angustula* não é reduzida no inverno.

Apesar de poucos estudos na literatura que buscam relacionar a temperatura e

abelhas nativas, é possível notar a tendência de maior suscetibilidade aos efeitos externos (exposição ao agrotóxico, por exemplo) em temperaturas menores afetando comportamento, organização da colônia e mortalidade. Neste trabalho, entretanto, os valores encontrados da concentração letal para o inverno não condizem com estudos prévios já realizados nesta temática, podendo assumir que outros fatores, entre eles, ambientais podem ter interferido na relação entre as espécies e o agrotóxico testado.

Um design experimental semelhante para calcular a concentração letal e utilizando o mesmo agrotóxico foi elaborado por Del Sarto e colaboradores (2014) que, ao testarem as diferenças de sensibilidade oral entre *A. mellifera* e *Melipona quadrifasciata* (espécie nativa) reportaram valores de 0,011 e 0,015 $\mu\text{g i.a abelha}^{-1}$, respectivamente, e concluíram que ambas as espécies apresentaram a mesma sensibilidade ao produto, e comparando com os resultados obtidos, no verão, se tem que a *M. scutellaris* é duas vezes mais sensível ao mesmo produto se comparada com a *M. quadrifasciata* e 1,4 se comparada a *Apis*, podendo concluir que a *Apis* e a *M. scutellaris* apresentam ligeira diferença na sensibilidade a este agrotóxico.

No caso da *T. angustula*, é 8 e 11 vezes mais suscetível a ação do Vertimec® 18 EC, comparando, respectivamente a *Apis* e *M. quadrifasciata*. No inverno, para a *T. angustula*, essa diferença é reduzida a duas vezes, aproximadamente, para ambas as espécies, contrapondo uma tendência de aumento de sensibilidade ao agrotóxico em temperaturas mais frias.

Piovesan e colaboradores (2020) encontraram uma CL_{50} oral(48h) para a espécie *Tetragonisca fiebrigi* de 3,53 $\text{ngi.a. } \mu\text{L}^{-1}$ dieta e para a *M. quadrifasciata*, no mesmo tempo de 8,81 $\text{ng i. a. } \mu\text{L}^{-1}$ dieta, ou seja, as abelhas do gênero *Melipona* apresentam menor sensibilidade que as abelhas do gênero *Trigoniforme* para esse estudo. Comparando com a *M. scutellaris* com os valores durante o período de verão, é 2 vezes menos suscetível ao Vertimec® 18 EC que a *T. fiebrigi* e apresenta a mesma sensibilidade que a espécie *M. quadrifasciata*, o que corrobora com os estudos de Piovesan e colaboradores (2020) sobre a maior tendência das abelhas *Melipona* de serem menos sensíveis a um agrotóxico que as trigoniformes.

A *T. angustula* é 2,5 e 6 vezes mais sensível em relação a *T. fiebrigi* e *M. quadrifasciata*, respectivamente. No inverno, a sensibilidade da *T. angustula* é a metade que a *T. fiebrigi* e 1,4 vezes maior que a *M. quadrifasciata*. A *T. angustula* apresenta maior sensibilidade que a *T. fiebrigi* frente à exposição pelo mesmo produto comercial, sendo que ambas apresentam menores valores de CL_{50} que as abelhas citadas

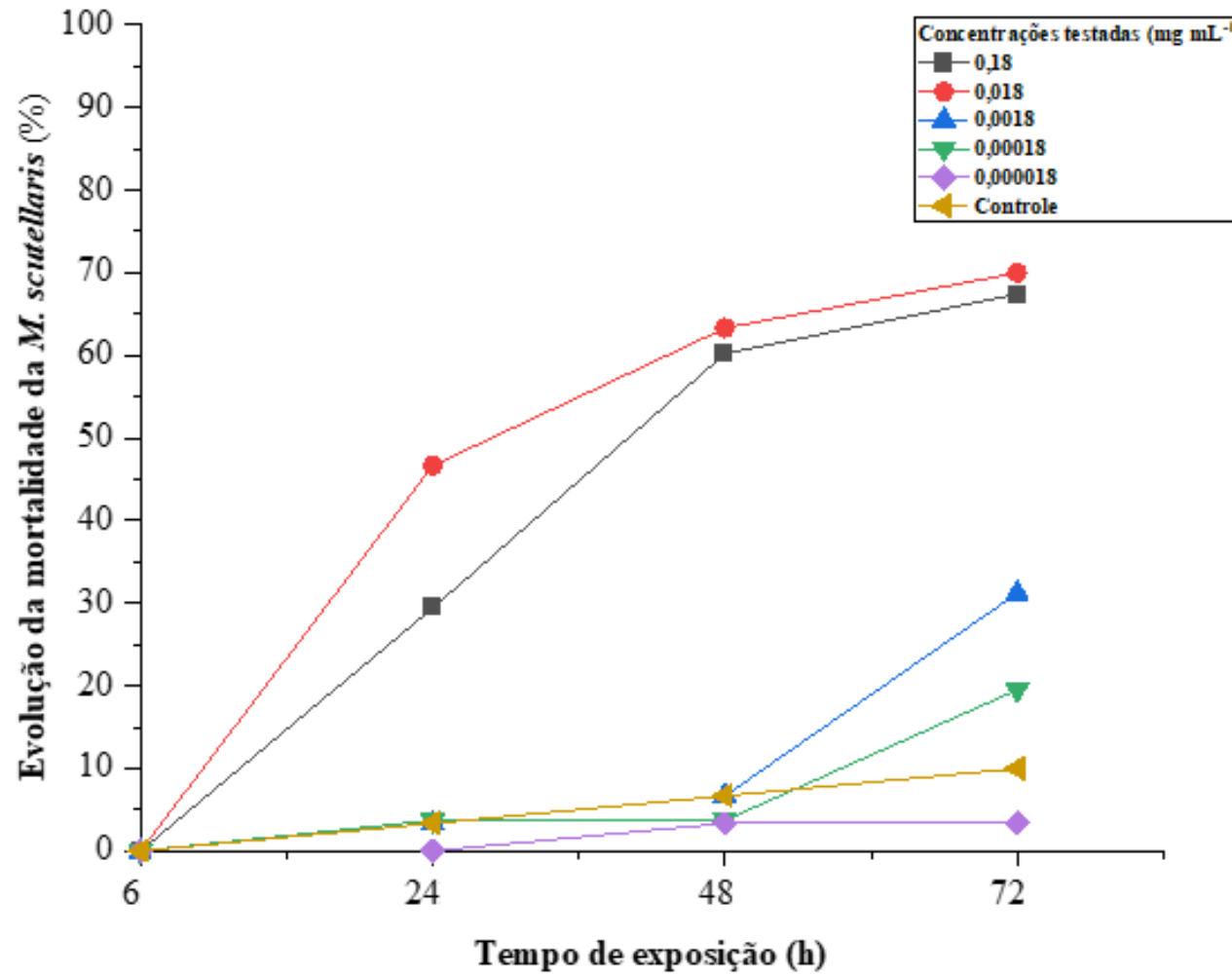
anteriormente.

Abdel Razik (2019) testou o mesmo produto comercial para as abelhas forrageiras da espécie *A. mellifera* obtendo valores para diferentes tempos de exposição, no caso, considerando os tempos de 24, 48 e 72h para critério de comparação (0,1; 0,03 e 0,03 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Neste caso, tem-se que essa espécie é quase 4 vezes menos suscetível a ação do agrotóxico que a *M. scutellaris* no verão e 21 vezes tendo a *T. angustula* como elemento de comparação na mesma estação. Este valor, para o tempo de 48h no inverno, mostra que a *T. angustula* é 5 vezes mais sensível que a abelha do estudo de Abdel Razik (2019), o que reforça a maior sensibilidade aos agrotóxicos pelas espécies nativas.

Na figura 7, para a *M. scutellaris*, não se constatou nenhuma mortalidade na amostra nas primeiras 6h que estava em contato com o alimento contaminado. Para 24h, a segunda maior concentração testada 0,018 mg mL^{-1} afetou diretamente 47% da amostra e em 72h, o número foi de 70%, valor aproximado para a concentração 0,18 mg mL^{-1} . A mortalidade para a concentração 0,000018 mg mL^{-1} foi considerada desprezível (figura 1).

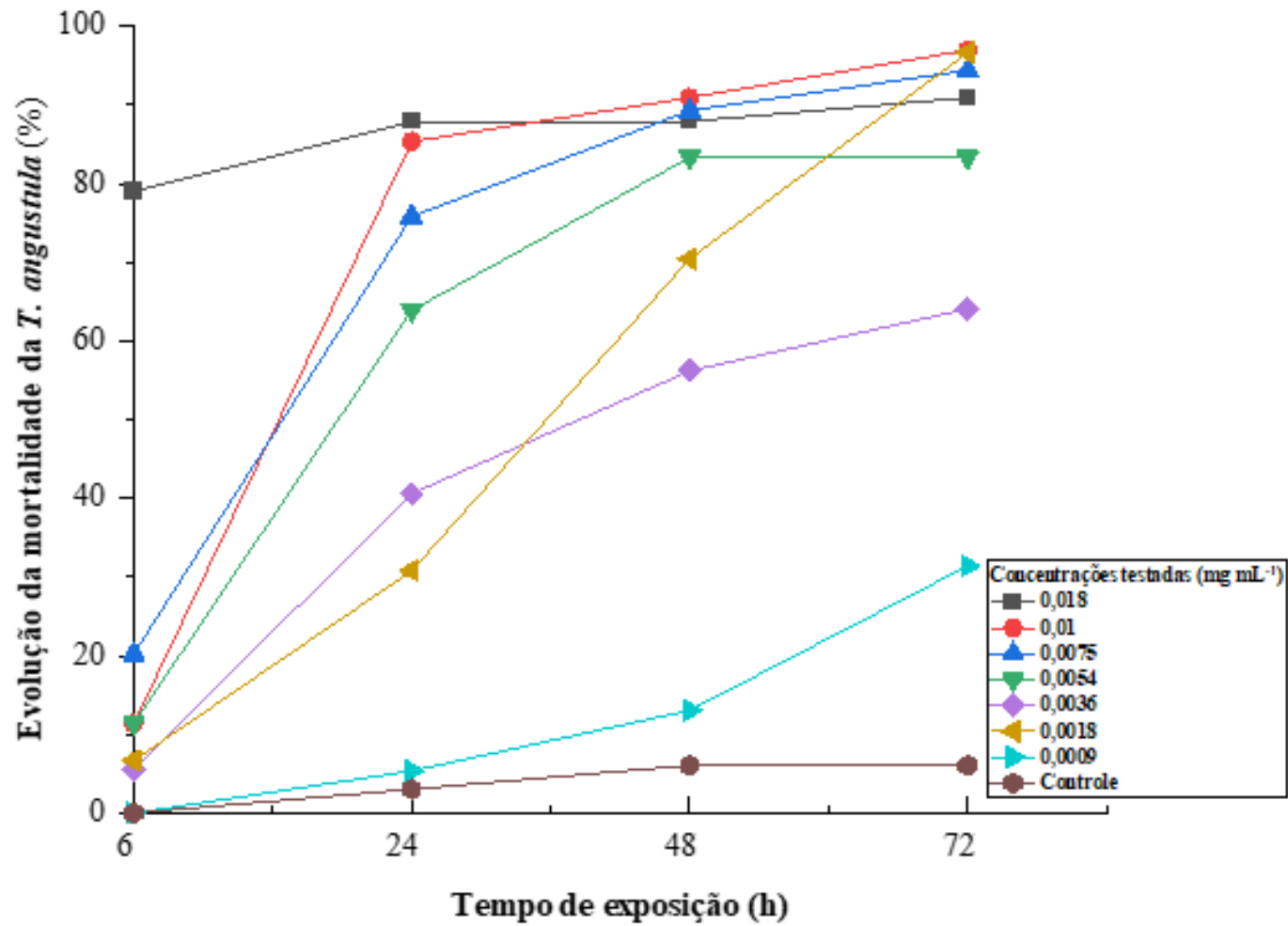
Para a *T. angustula*, pela figura 8, a concentração 0,018 mg mL^{-1} , em 6h, teve a mortalidade de 79% da amostra atingindo 91% em 72h, a segunda maior concentração, se tem valores, respectivamente, de 11 e 97%. Resultados diferentes se comparado com a concentração 0,0018 mg mL^{-1} que em 6h houve mortalidade observada aproximadamente de 6 a 7% atestada, e em 72h, houve a perda de 97% da amostra.

Figura 7. Evolução da mortalidade *M. scutellaris* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.



Fonte: Própria autora.

Figura 8. Evolução da mortalidade *T. angustula* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.



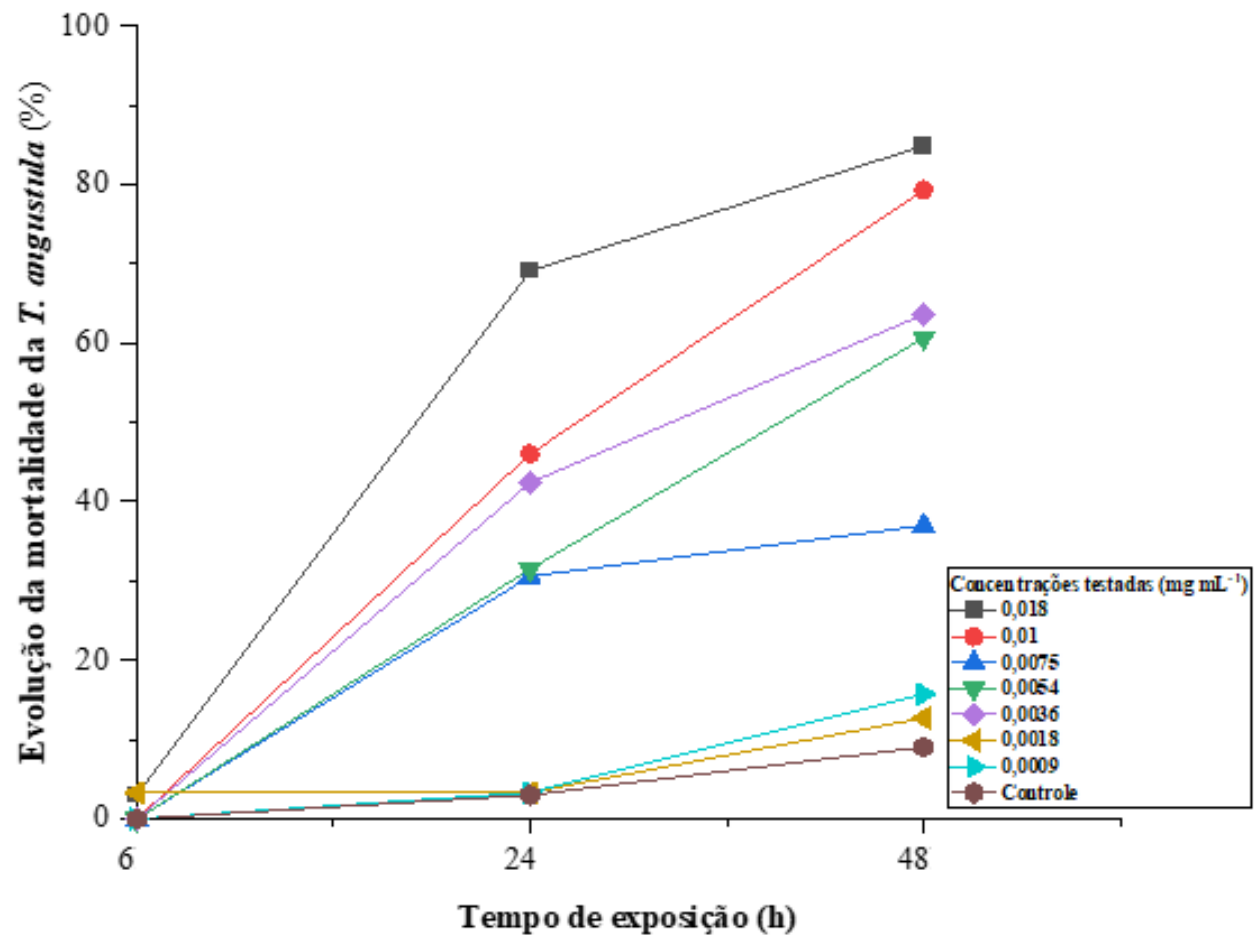
Fonte: Própria autora.

Considerando as mesmas concentrações testadas no verão, os resultados no inverno diferiram.

A figura da evolução da mortalidade da *M. scutellaris* não foi obtido por conta da invalidez do teste.

A *T. angustula*, em comparação, teve seus valores de mortalidade menores que 10% nas primeiras 6h, sendo que a concentração de 0,018mg mL⁻¹ ultrapassou 80% de mortalidade da amostra em 48h, enquanto a menor, 0,0009mg mL⁻¹ está na faixa de 16 a 17% (figura 9).

Figura 9. Evolução da mortalidade *T. angustula* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno.



Fonte: Própria autora.

Comparando as três figuras, o bioensaio da *M. scutellaris*, a mortalidade do controle seguiu conforme o valor máximo exigido pelo protocolo, sendo que no inverno não foi possível seguir com o teste por conta da sensibilidade da amostra. No verão, a segunda maior concentração (0,018 mg mL⁻¹) ultrapassou a mortalidade da maior concentração (0,18 mg mL⁻¹) para 72h, atingindo o valor aproximado de 70%.

O bioensaio para a *T. angustula* também seguiu os resultados de mortalidade de controle da *M. scutellaris*: até 10% da amostra foi afetada. No verão, a menor concentração (0,0009 mg mL⁻¹) apresentou quase 30% de mortalidade na amostra em 72h, e as concentrações 0,01 e 0,0018 mg mL⁻¹ atingiram o mesmo valor de mortalidade em 72h, sendo que a maior concentração teve seu valor menor que as da segunda e terceira maiores concentrações.

No inverno, a segunda maior concentração, 0,01 mg mL⁻¹, atingiu valor maior que 80% de mortalidade da amostra e as concentrações medianas 0,054 e 0,0036 mg mL⁻¹ apresentaram valores próximos a 60% de indivíduos afetados pelo consumo do agrotóxico em 48h, maiores que o encontrado para 0,0075 mg mL⁻¹ que também foi a concentração de menor variação de mortalidade de 24 a 48h com exceção do controle.

b) Tempo Letal (TL₅₀)

Apesar das recomendações apresentadas no rótulo do agrotóxico, não é possível, ao certo, saber se a manipulação deste produto, por parte dos agricultores, ocorre conforme indicado pelo fabricante. Sendo assim, é plausível considerar o cenário de super dosagem nas lavouras, buscando rápida resposta contra os organismos alvos, sem um amplo entendimento das consequências não apenas para quem manuseia o produto, mas seus efeitos no ambiente.

A super dosagem de um agrotóxico pode afetar mais rapidamente as abelhas forrageiras e ao transportarem esses resíduos, a contaminação e morte da colmeia pode ser inevitável e ocorrendo de forma mais acelerada se comparadas ao serem expostas as dosagens recomendadas. Com isso, buscou determinar o tempo necessário que a dosagem máxima recomendada para o cultivo de morango pudesse causar a mortalidade de 50% da amostra. Os resultados obtidos estão presentes no quadro 2.

Quadro 2. Tempo Letal do inseticida Vertimec® 18 EC das abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula* para verão e inverno.

Período	Produto	Concentração (mgL ⁻¹)	Espécie	Tempo Letal (TL ₅₀) (h)
Verão	Vertimec® 18 EC	0,0135	<i>M. scutellaris</i>	18,16
			<i>T. angustula</i>	7,95
Inverno			<i>M. scutellaris</i>	>96h
			<i>T. angustula</i>	12,99

Fonte: Própria autora.

No presente estudo, o tempo letal da *M. scutellaris*, no verão, foi 2,28 vezes maior do que o obtido para a *T. angustula*, enquanto que no inverno, a diferença foi de, no mínimo, 7,4 vezes maior.

Ao serem comparadas as estações climáticas e seus efeitos no tempo letal das abelhas testadas, observou-se que no verão, o TL₅₀ da *M. scutellaris* foi, no mínimo, 5 vezes menor do que aquele observado no inverno. Esta mesma comparação feita para *T. angustula*, entretanto, no inverno, resultou em TL₅₀ quase duas vezes menor.

Khan (2002) identificou para a *Apis cerana indica* um tempo letal de 12,22h, valor 1,48 e no mínimo 7,85 menor que para a *M. scutellaris*, respectivamente, no verão e inverno. Utilizando a *T. angustula* para comparação, o valor é de 1,5 maior tanto no verão quanto inverno. Assim, das três abelhas, a *M. scutellaris* mostrou-se menos sensível a este agrotóxico, sendo que para afetar 50% da sua população, exige-se um tempo maior de resposta.

Aljedani (2017), para abelha *Apis mellifera jemenatica*, concluiu que a abamectina age mais rapidamente na mortalidade da espécie que a deltametrina com tempo letal de 21,026h versus 72,011h. Esse tempo, em relação a abamectina,, para o verão, é 1,16 e 2,6 vezes maior que o obtido para a *M. scutellaris* e *T. angustula* respectivamente e em comparação no inverno, os valores são de 0,22 e 1,62. Mostrando que a abelha testada por este autor foi menos suscetível a ação desta substância quando comparada a *M. scutellaris* e a *T. angustula*.

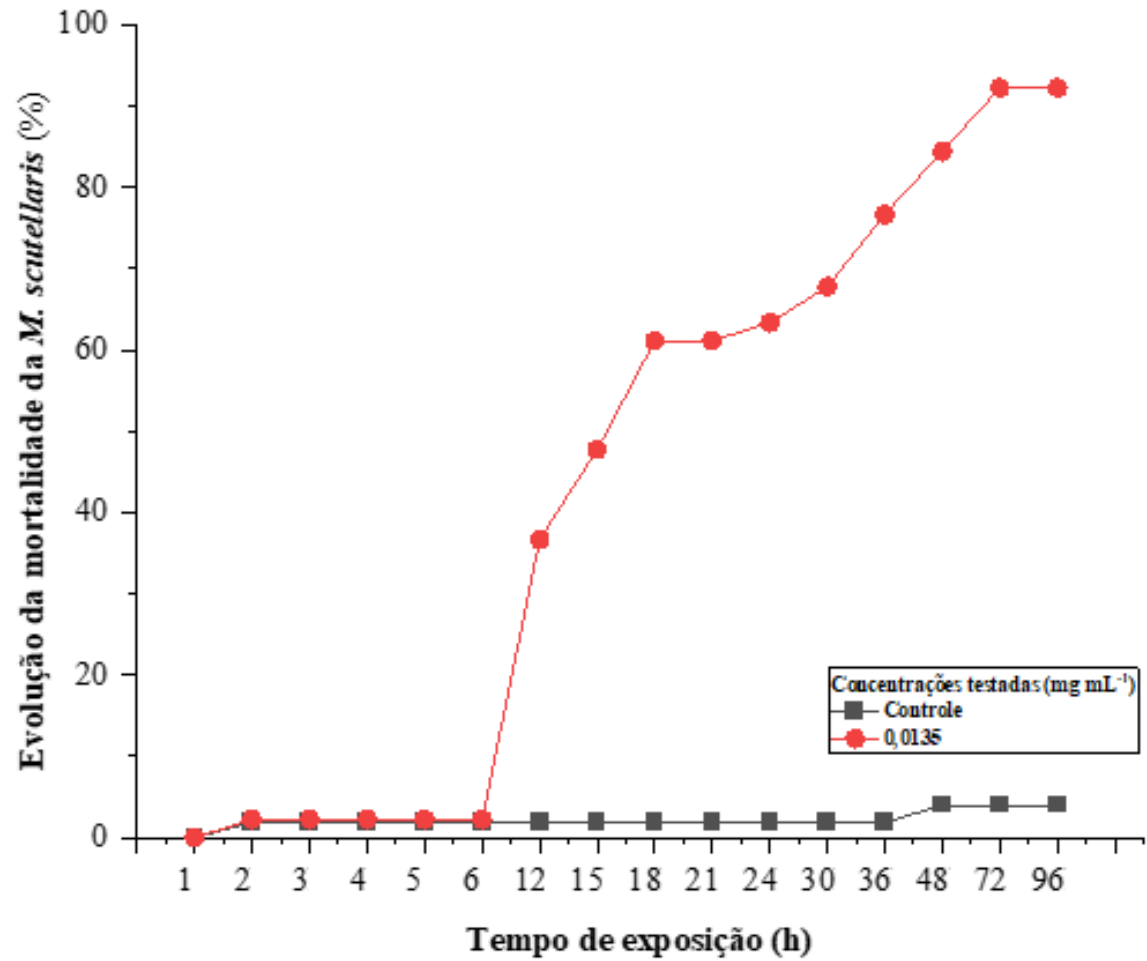
Dentre os estudos que objetivaram comparar o tempo letal da abelha nativa no Brasil, o de Ferreira e colaboradores (2020) concluiu que o TL_{50} da *Scaptotrigona* aff. *xanthotricha* foi de 8,25h, podendo ser considerado o mesmo tempo obtido por este estudo e referente à *T. angustula*, concluindo que ambas apresentam o mesmo tempo de resposta para a abamectina durante o verão.

Apesar disso, os dados apresentados neste trabalho foram coletados na época recomendada pelo protocolo de exposição oral, o que inviabilizou comparações no inverno, já que não são os mesmos períodos de teste.

As figuras 10 e 11 apresentam a evolução da mortalidade das abelhas *M. scutellaris* e *T. angustula*, respectivamente, e que permitiu o cálculo do tempo letal para a estação do verão para ambas as espécies. Na figura 10, a concentração testada alcançou valor de mortalidade de quase 40% em 12h. Em 15h, quase 50% da amostra foi afetada pela substância. Notou-se uma rápida evolução da mortalidade a partir do tempo 30h, com a estabilização a partir de 72h até o fim do teste.

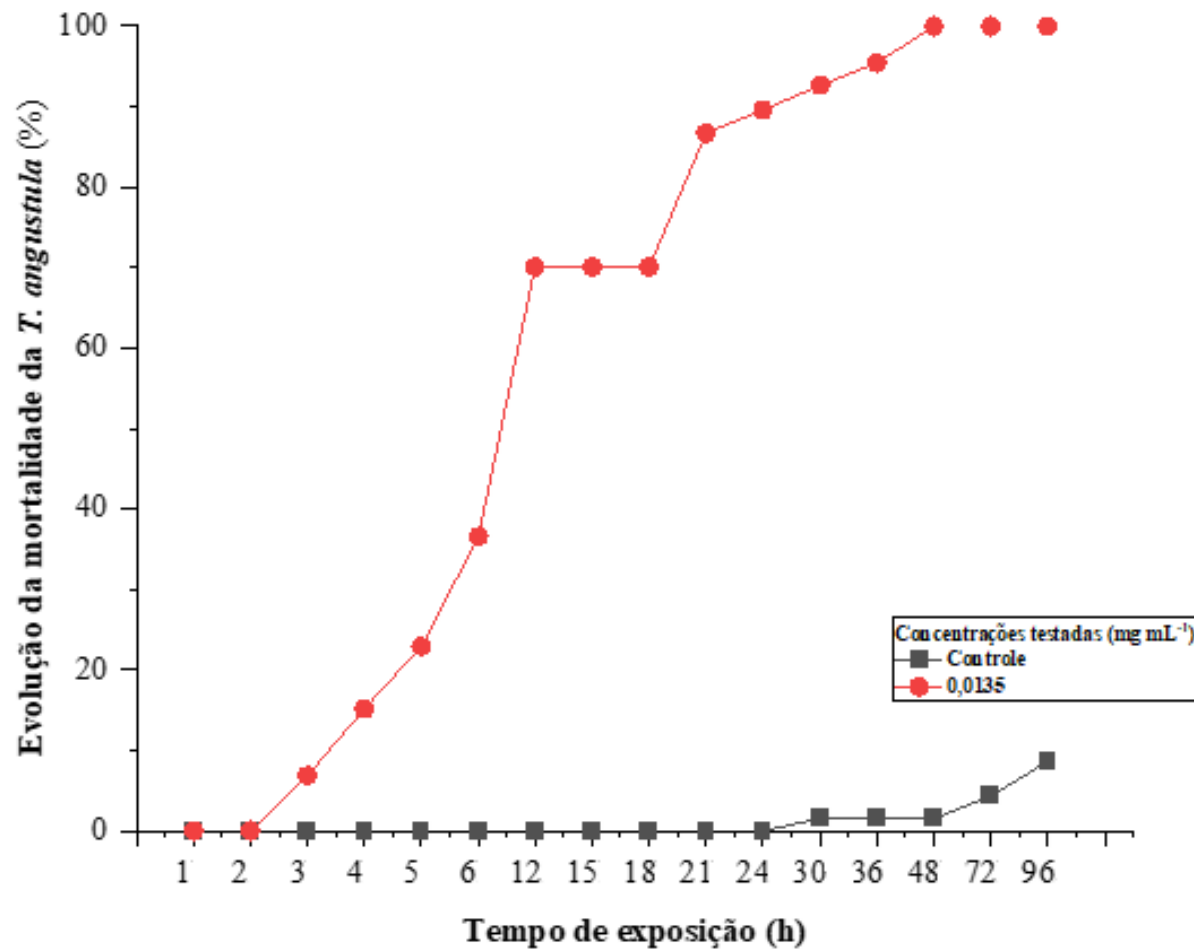
Para a *T. angustula* (figura 11), apresentou-se uma mortalidade do controle abaixo do máximo estabelecido pelo protocolo. A concentração testada de 0,0135 mg ml⁻¹, apresentou mortalidade apenas a partir de 2h de exposição, com crescimento exponencial até 70% de indivíduos mortos na amostra em 12h, com novo aumento em 18h até atingir 100% em 48h.

Figura 10. Evolução da mortalidade *M. scutellaris* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.



Fonte: Própria autora.

Figura 11. Evolução da mortalidade *T. angustula* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.

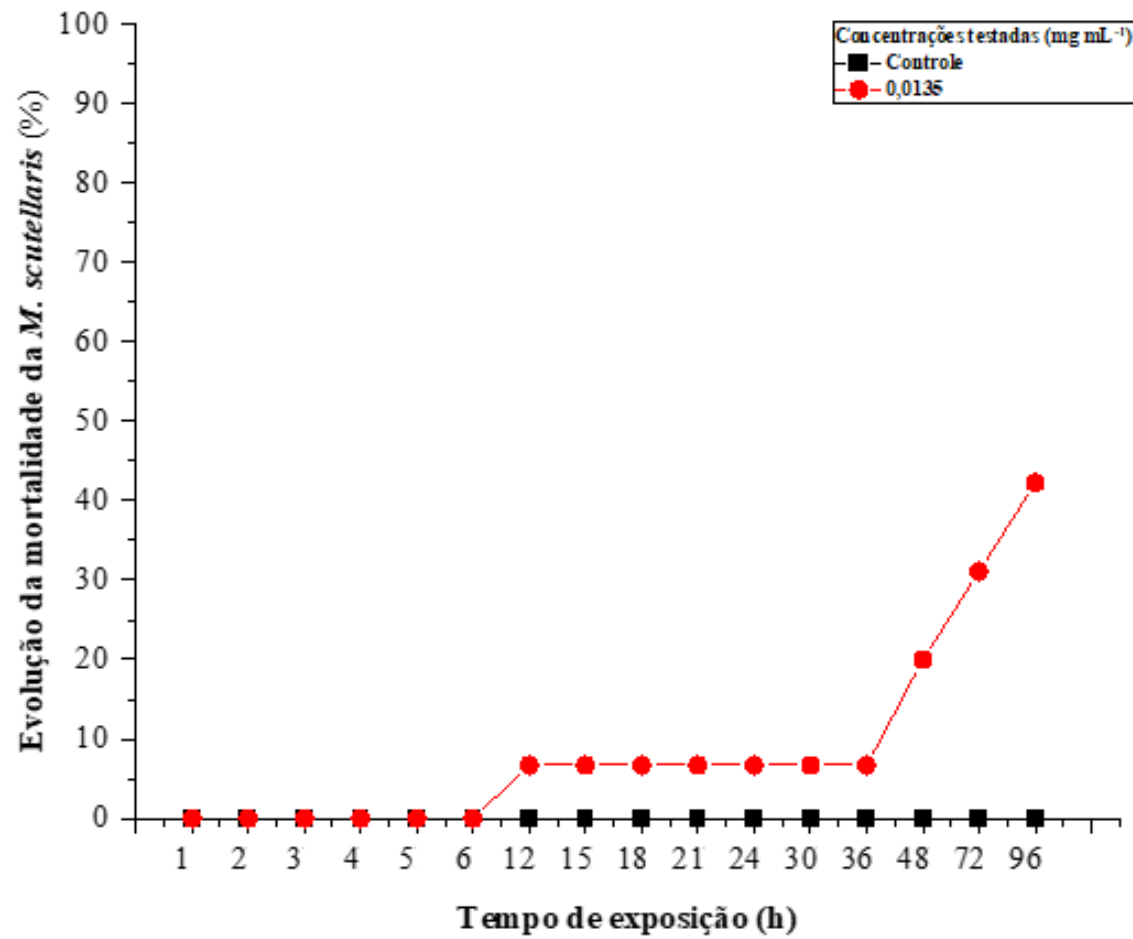


Fonte: Própria autora.

Referente à evolução da mortalidade da *M. scutellaris* no inverno (figura 12), não se constatou nenhuma mortalidade para a amostra controle até o fim do bioensaio. Para a concentração testada, 0,0135 mg ml⁻¹, não houve mortalidade observada até no tempo 6h com estagnação em torno de 7% até o tempo 36h. A partir deste tempo, houve crescimento da mortalidade até 96h. Sugere-se que o tempo letal para afetar 50% da amostra se daria após o tempo máximo de teste, por conta da análise estatística obtida e pela figura.

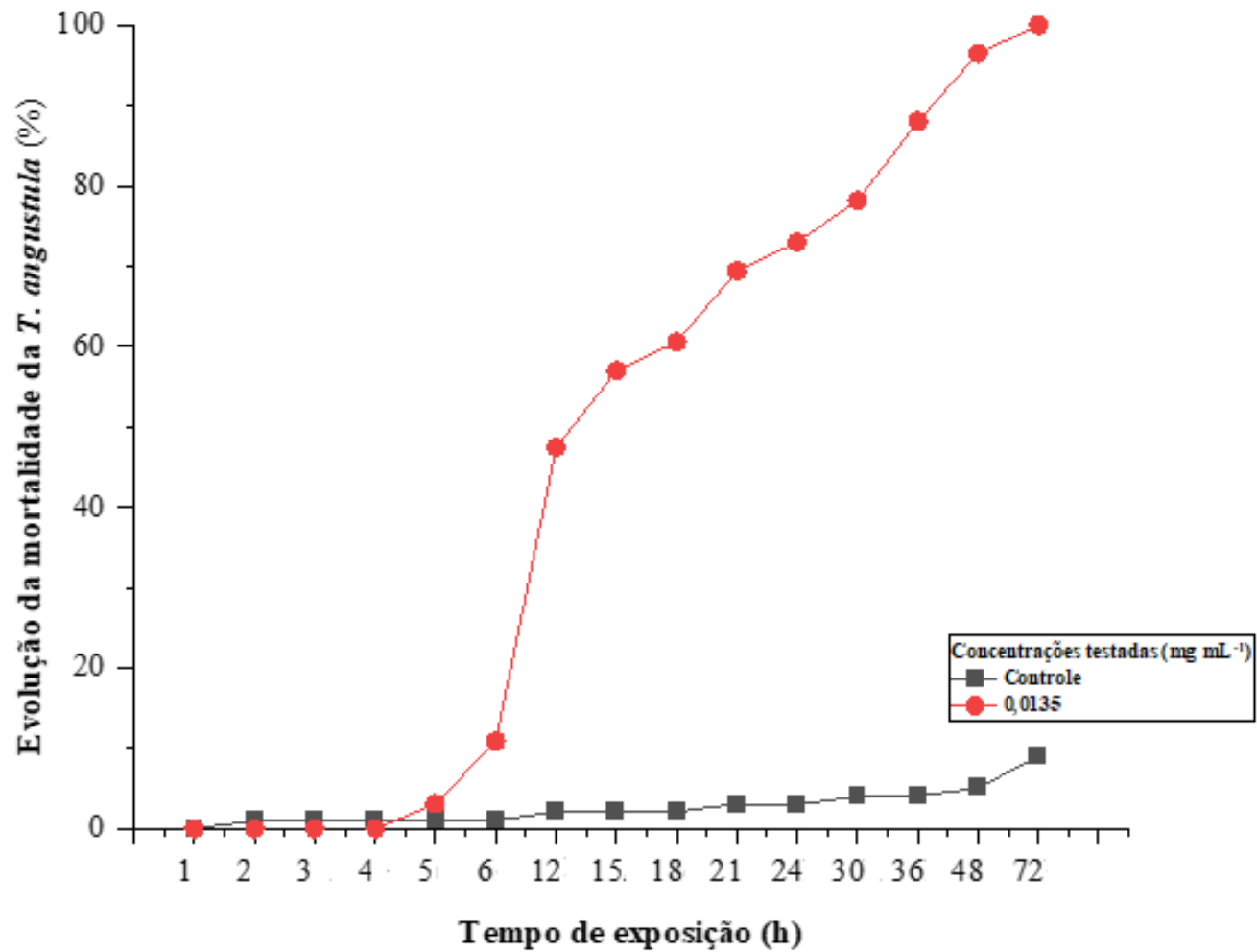
Para a *T. angustula* (figura 13), a mortalidade para a concentração testada se deu a partir do tempo 4h, com um crescimento exponencial até 72h. O tempo 96h não foi analisado porque a mortalidade do controle ultrapassou o valor exigido pela metodologia (10%).

Figura 12. Evolução da mortalidade *M. scutellaris* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno.



Fonte: Própria autora.

Figura 13. Evolução da mortalidade *T. angustula* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno.



Fonte: Própria autora.

Comparando-se as quatro figuras da evolução da mortalidade referentes a exposição oral, para ambas as espécies, tem-se que, durante o verão, a *M. scutellaris* apresentou um rápido crescimento na mortalidade entre os tempos 6 e 18h, sendo que para o mesmo tempo, no inverno, houve uma estagnação, sem atingir 50% de mortalidade da amostra até o fim do teste. A *T. angustula*, para seu controle, a mortalidade ficou abaixo do requisito da metodologia utilizada. No verão, houve dois períodos de crescimento: 2 às 12h e 18h às 48h, enquanto no inverno, se deu do tempo 4h às 72h.

c) Tempo residual (TR₂₅)

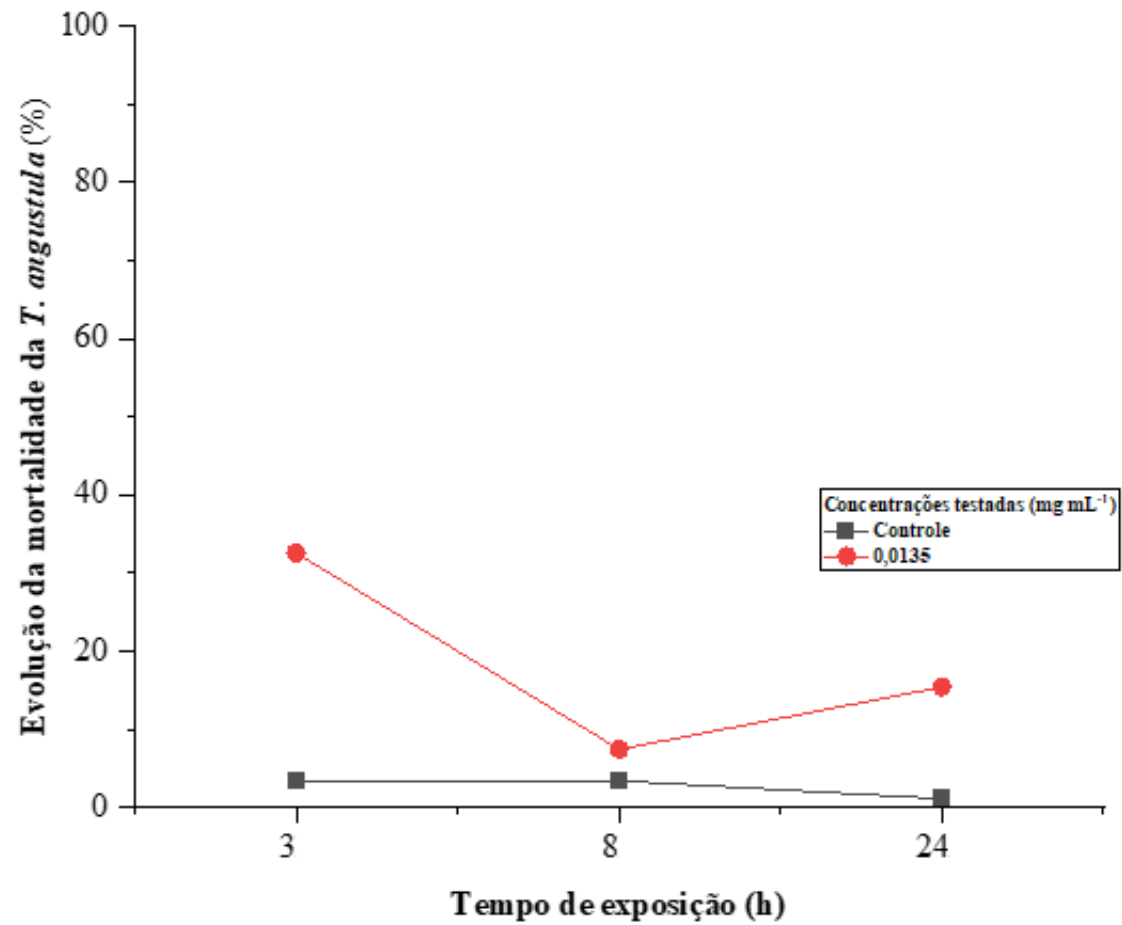
Na figura 14, tem-se que a mortalidade do controle seguiu o exigido pelo protocolo: até 20% dos indivíduos da amostra poderiam ser afetados pela substância a ser testada. Tanto para o tempo 8 e 24h se teve a mortalidade almejada, inferior a 25% da amostra, respectivamente, menos que 10 e 20%.

Para o período invernal, figura 15, a mortalidade do controle também está abaixo dos 20%. No inverno, para o tempo de 3h, houve 90% de mortalidade da amostra, enquanto que para o verão, o mesmo tempo, o valor não ultrapassou 40%. O valor buscado, de acordo com o protocolo, foi encontrado, no verão, em 8h e 24h, e no inverno, apenas em 72h.

Estudos com esta temática são escassos na literatura. Um trabalho se aproximou a esta pesquisa, sendo possível a comparação de resultados. Costa e autores (2014), ao pulverizarem o Vertimec® 18 EC nas folhas de melão que a *A. mellifera* entraria em contato, constataram que um tempo letal menor que um dia, da mesma que a *T. angustula* no verão, sendo que no inverno, este valor só é obtido no terceiro dia após a contaminação das folhas.

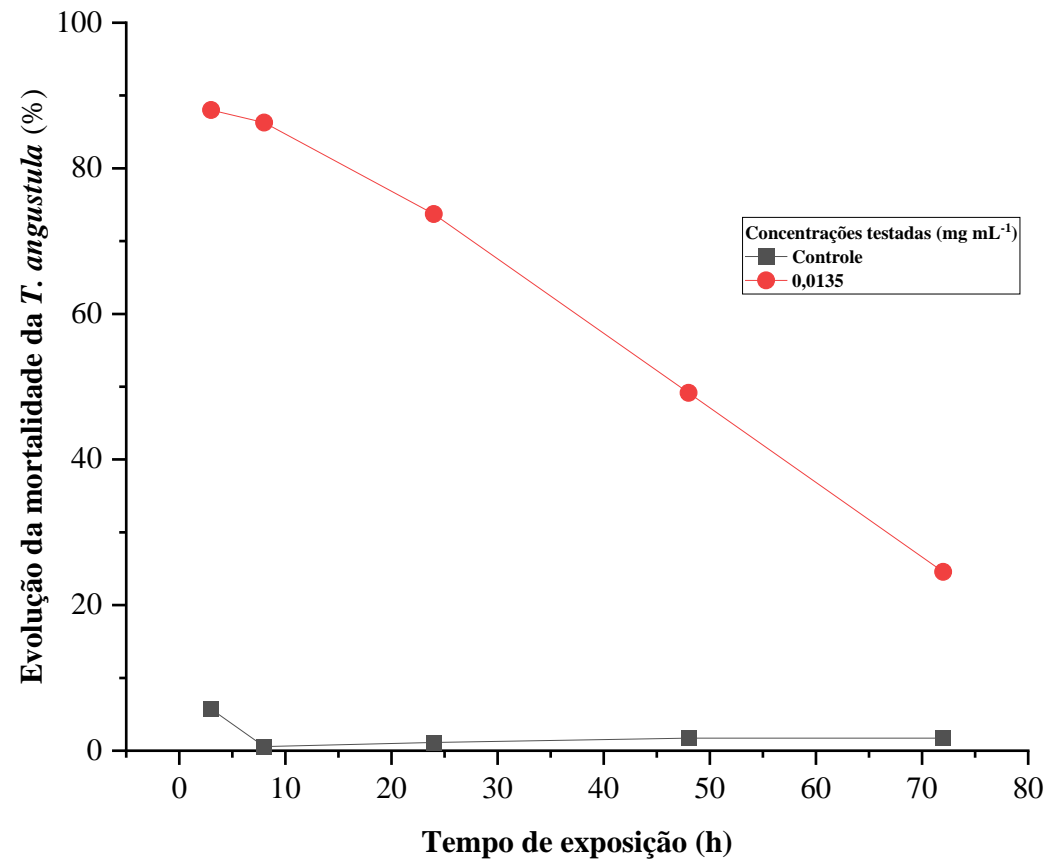
É insuficiente concluir com uma base escassa, porém, já é um indicativo que o Vertimec® 18 EC tem potencial de afetar a população de abelhas mesmos que as espécies vegetais tenham sido tratadas dias antes, sendo necessário aumentar o estudo nesta área para uma maior compreensão dos efeitos residuais dos agrotóxicos nas abelhas.

Figura 14. Evolução da mortalidade *T. angustula* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do verão.



Fonte: Própria autora.

Figura 15. Evolução da mortalidade *T. angustula* após exposição oral à dose de Vertimec® 18 EC na estação do inverno.



Fonte: Própria autora.

6. Conclusão

O Vertimec® 18 EC é um inseticida comumente usado nas lavouras de morango da cidade de Bom Repouso (MG) e sabe-se que a dose recomendada para o cultivo, muitas vezes, não é seguida pelos agricultores locais, o que acarreta em uma superexposição do contaminante às abelhas forrageiras, como a *M. scutellaris* e *T. angustula*, em diferentes vias: oral, por ser alimentar de recursos florais contaminados e por contato com os resíduos dos produtos nas folhas da planta.

O estudo feito buscou comparar a exposição do Vertimec® 18 EC para ambas as espécies, em duas estações do ano, com características opostas: verão e inverno.

No verão, a concentração letal para a *M. scutellaris* foi maior que para a *T. angustula*, ou seja, ela apresentou maior resistência ao agrotóxico, sendo necessário, consumo maior para que haja o mesmo efeito que na *T. angustula*. No inverno, não foi possível obter a concentração letal para a *M. scutellaris*, porém para a *T. angustula*, o valor foi superior àquele obtido para a estação anterior, indicando possível menor susceptibilidade ao agrotóxico por conta de fatores fisiológicos relacionados com a mudança de estação.

Este efeito de valores maiores no inverno se aplica ao tempo letal que indicou que independentemente da estação, a *M. scutellaris* é menos suscetível aos efeitos do agrotóxico que a *T. angustula*, sendo que para o inverno o tempo letal superou o tempo máximo de teste, não sendo calculado.

O teste de tempo residual teve uma diferença da forma que as abelhas reagiram. No verão, o tempo para a mortalidade de menos de 25% da amostra foi conseguida já nas duas primeiras horas, conforme protocolo, sendo que no inverno, este valor só ocorreu no tempo 72h, sugerindo que os efeitos residuais dos produtos químicos são potencializados no inverno.

Sendo assim, se conclui que o Vertimec® 18 EC apresenta riscos tanto no verão quanto no inverno, sendo que a exposição oral é a que apresenta maior variação de valores ao se comparar temperatura quente e fria, Para os efeitos residuais, o inverno tem maior ação, sendo necessários estudos que busquem entender o comportamento e fisiologia destas espécies no inverno para justificar essa sensibilidade.

Estes estudos complementares exigirão maior rigorosidade nos critérios utilizados para a liberação de agrotóxicos pela esfera pública e até mesmo sugerir aos fabricantes, indicações de concentrações máximas para estes produtos ao serem usados

em diferentes épocas do ano, considerando a sanidade e preservação das abelhas nativas.

7. Bibliografia

A ABELHA URUCU (*MELIPONA SCUTELLARIS*, LATREILLE, 1811 – APIDAE, MELIPONINAE). Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/urucu>>. Acesso em 13 de outubro de 2020.

ABDEL RAZIK, M. A. A. 2019. **Toxicity and side effects of some insecticides applied in cotton fields on *Apis mellifera***. Environ Sci Pollut Res 26, 4987–4996 (2019). doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-04061-6>

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ. ADAPAR. 2020. **Fiscalização para coibir a deriva de agrotóxicos**. Disponível em: <<http://www.adapar.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=46>>. Acesso em 22 março de 2020.

_____. 2021. **Vertimec® 18 EC**. Disponível em:<http://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/vermitec18ec070218.pdf>. Acesso em 18 de fevereiro de 2021.

AGROFIT. 2020. **Base de dados de produtos agrotóxicos e fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>>. Acesso em: 25 de março de 2020.

ALEIXO, K. P.; CLAUDIA, S.; NUNES-SILVA, B.; FREITAS, B.; IMPERATRIZ – FONSECA, V. L. 2014. **Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil**. São Paulo: IEA/USP.

ALJEDANI, D. M. 2017. **Effects of abamectin and deltamethrin to the foragers honeybee workers of *Apis mellifera jemenatica* (Hymenoptera: Apidae) under laboratory conditions**. *Saudi J Biol Sci.*; 24(5):1007-1015. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.12.007

ALLEN, M. D.; JEFFREE, E.P. 1956. **The influence of stored pollen and of colony size on the brood rearing of honeybees**. *Ann Appl Biol*, 44, pp. 649-656.

ALLEN-WARDELL, G. et al. 1998. **The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields**. *Conservation Biology*, v.12, n.1, p.8-17, feb.

ATTENBOROUGH, D. 1995. **A vida privada das plantas**. Editora Gradiva, São Paulo, p. 93 – 147.

BAKER, H. G.; HURD, P. D. Jr. 1968. **Intrafloral ecology**. *Ann. Rev. Entomol.* 13:385-414.

BALESTRA, V.; CELLI, G.; PORRINI, C. 1992. **Bees, honey, larvae and pollen in biomonitoring of atmospheric pollution**. *Aerobiologia*, 8 (1) 122 – 126.

- BARBOSA, I. M. 2012. **Degradação de Abamectina por Processos Oxidativos Avançados**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas.
- BARILLI, D. et al. 2019. **Modos de ação dos inseticidas comerciais**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/340294235_Modos_de_acao_dos_inseticidas_comerciais>. Acesso em 13 de outubro de 2020.
- BIESMEIJER, J. C.; SLAA, E. J. 2004. **Information flow organization of stingless bee foraging**. *Apidologie*, v.35, n.2, p.143-157, Mar./Apr.
- BOGDANOV, S. 2003. **Quality and Standards of pollen a beeswax**. *Apiacta*, 38, 334-341.
- _____. 2006. **Contaminants of bee products**. *Apidologie* 37, 1–18.
- BOMFIM, I. G. A.; OLIVEIRA, M. O.; FREITAS, B. M. 2017. Curso Técnico em Apicultura. **Biologia das Abelhas**. Fundação Universidade Estadual do Ceará. Universidade Estadual do Ceará.
- BOMMARCO, R.; KLEIJN, D.; POTTS, S. G. 2013. **Ecological intensification: Harnessing ecosystem services for food security**. *Trends in Ecology and Evolution* 28:230-238.
- BORGES, F. A.; SILVA, H. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; SANTOS, E.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. 2008. **Endectocide activity of a new long-action formulation containing 2.25% ivermectin + 1.25% abamectin in cattle**. *Veterinary Parasitology* v. 155, p. 299-307.
- BOSCH, J.; KEMP, W. P. 2003. **Effect of wintering duration and temperature on survival and emergence time in males of the orchard pollinator *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae)**. *Environ Entomol* 32:711–716. doi: 10.1603/0046-225X-32.4.711
- _____. 2004. **Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae)**. *Apidologie* 35:469–479. doi:10.1051/apido:2004035
- BOSCH, J.; KEMP, W. P.; PETERSON, S. S. 2000. **Management of *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae) populations for almond pollination: methods to advance bee emergence**. *Environ Entomol* 29:874–883.
- BRASIL. 1934. **Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1930-1949/d24114.htm>. Acesso em 26 junho de 2021.
- _____. 1976. **Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33864/284972/lei_6360.pdf/5330c06d-1c17-4e1e-8d21-d7e3db4d3ce4>. Acesso em 26 junho de 2020.

_____. 1989. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.html>. Acesso em 20 junho de 2020.

_____. 2002. **Decreto Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>. Acesso em 20 junho de 2020.

_____. 2017. **Decreto nº 8.973, de 24 de janeiro de 2017**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/d8973.htm>. Acesso em 16 de janeiro de 2022.

BROWN, J. C.; ALBRECHT, C. 2001. **The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil**. Journal of Biogeography. 28:623-634. doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2699.2001.00583.x>

CAMPBELL, W. C. 1989. **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer-Verlag New York Inc., 379 p.

CELLI, G.; MACCAGNANI, B. 2003. **Honey bees as bioindicators of environmental pollution**. Bulletin of Insectology. 137-139.

CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. CGEE. 2017. **Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global**. DF: 124p.

CHAUZAT, M-P.; MARTEL, A-C.; COUGOULE, N.; PORTA, P.; LACHAIZE, J.; ZEGGANE, S.; AUBERT, M.; CARPENTIER, P.; FAUCON, J-P. 2011. **An assessment of honeybee colony matrices, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to monitor pesticide presence in continental France**. Environmental Toxicology and Chemistry, 30(1), 103–111.

CONTI, M. E; BOTRÈ, F. 2001. **Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination**. Environmental Monitoring Assessment 69, 267–282.

COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MAIA, A. V. P. et al. 2014. **Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions**. Apidologie 45, 34–44. doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0226-5>

COSTANZA R. et al. 2017. **Twenty years of ecosystem services: How far have we come and how far do we still need to go?** Ecosyst Serv 28:1–16.

COX, R. L.; WILSON, W.T. 1984. **Effects of permethrin on the behavior of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)**. Environmental Entomology.

DAILY, G. 1997. **Nature's services: societal dependence on natural ecosystem**. Washington, DC: Island Press.

- DALY, H. E.; FARLEY, J. 2004. **Ecological economics: principles and practice**. Washington, DC: Island Press, 454 p.
- DE GROOT, R. S.; WILSON, M. A.; BOUMANS, R. M. J. 2002. **A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services**. *Ecological Economics*, v. 41, n. 3, p. 393-408, Jun.
- DECOURTYE, A.; LACASSIE, E.; PHAM-DELÈGUE, M.-H. 2003. **Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season**. *Pest Management Science*, 59(3), 269–278. doi:10.1002/ps.631
- DEL SARTO, M. C. L.; OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N. C. et al. 2014. **Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera***. *Apidologie* 45, 626–636. doi: <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0281-6>
- DÖKE, M. A.; FRAZIER, M.; GROZINGER, C. M. 2015. **Overwintering honey bees: biology and management**. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 185-193. [147]. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.05.014>
- ELLIS, J. D.; EVANS, J. D.; PETTIS, J. 2010. **Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States**. *J. Apic. Res.* 49(1), 134–136.
- ENDRESS, P. K. 1998. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 511p.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. EPA. 2012. **OCSPP 850.3030: Honey Bee Toxicity of Residues on Foliage**.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. EFSA. 2021. **How pesticides are regulated in the EU - EFSA and the assessment of active substances**. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/Pesticides-ebook-180424.pdf>. Acesso em 01 de janeiro 2022.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. 1971. **The principles of pollination ecology**. Pergamon Press, L.
- FARLEY, J. 2012. **Ecosystem services: the economics debate**. *Ecosystem Services*, v. 1, n. 1, p. 40- 49, Jul.
- FERNÁNDEZ, M. C.; SUBRÁ, E. Y. A. 1994. **Ortiz, La miel, indicador ambiental. Prácticas ecológicas para una agricultura de calidad**. I Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica (Proceedings). Toledo, España. 37-46.
- FERREIRA, M. F. de O.; FRAGA, R. de; BARROS, E. C.de; AUGUSTO, S. C. 2022. **Effects of abamectin and acetamiprid pesticides on the survival and behavior of *Scaptotrigona aff. xanthotricha* (Apidae, Meliponini)**, *Journal of Apicultural Research*, 61:1, 37-44. doi: 10.1080/00218839.2020.1835262

FERRI, M. G. 1999. **Botânica: Morfologia Interna das plantas (anatomia)**. 9ed. Editora Nobel, São Paulo, p. 98–150.

FILGUEIRA, F. A R. 2008. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV. 421 p.

FINLAYSON, D. G.; MACCARTHY, H. R. 1973. **Pesticide Residues in Plants**. In: EDWARDS, C. A. Environmental pollution by pesticides. 1 ed. Londres: Plenum Publishing Company Ltd. P. 57-82.

FINNEY, D. J. 1971. **Probit Analysis**. (third ed.), Cambridge University Press, London, p. 333.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAO. 2004. **Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture - the international response**. In: B.M. Freitas, J.O.P. Pereira (eds.). Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Imprensa Universitária.

_____. 2019. **The state of the world's biodiversity for food and agriculture**. In: BÉLANGER, F., PILLING, D (eds.). Rome. 572 pp.

FREITAS, B. M.; SILVA, C. I. 2015. **O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil**. In: Agricultura e Polinizadores. 1 ed. São Paulo: A.B.E.L.H.A. – Associação Brasileira de Estudos das abelhas, p. 9-18.

GENERSCH, E.; OHE, W. ; KAATZ, H.; SCHROEDER, A. ; OTTEN, C. ; BÜCHLER, R.; BERG, S. ; RITTER, W.; MÜHLEN, W.; GISDER, S. *et al.* 2010. **The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies**. *Apidologie*, 41, pp. 332-352.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D. 2016. **Abelhas polinizadoras importantes para a agricultura brasileira**. Mensagem Doce, São Paulo, n.136. p. 90.

GODÓI, R. 1989. **Criação racional de abelhas jataí**. São Paulo: Ícone.

HAINES-YOUNG, R.; POTSCHIN, M. B. 2018. **Common International Classification of Ecosystem Services (CICES)**. V5.1 and Guidance on the Application of the Revised Structure.

HEITHAUS, E. R. 1974. **The role of plant-pollinator interactions in determining community structure**. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61:675-691.

HEPBURN, H. R. 2011. **Absconding, migration and swarming**. H.R. Hepburn, S.E. Radloff (Eds.), *Honeybees of Asia*, Springer, Berlin, pp. 133-158.

IPBES. 2016. **The assessment report of the Intergovernmental Science Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production.** 552. p.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. 2012. **Efeito dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil.** Brasília, 88 p.

2017a. **Instrução Normativa Nº 2, de 9 de fevereiro de 2017.** Disponível em: <www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&legislacao=136950>. Acesso em 07 de março de 2021.

2017b. **Manual de Avaliação de Risco Ambiental de Agrotóxicos para Abelhas.** Ministério do Meio Ambiente, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Diretoria de Qualidade Ambiental. Disponível em: <<http://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/2017-07-25-manual-ibama-ara-abelhas-in0217-web-pdf>>. Acesso em 07 de março de 2021.

2018. **Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos.** Brasília: Ibama.

2021. **Avaliação ambiental para registro de agrotóxicos, seus componentes e afins de uso agrícola.** Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/avaliacao-e-destinacao/quimicos-e-biologicos/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#historico>>. Acesso em 10 de janeiro de 2022.

KEARNS, C. A.; INOUE, D.W.; WASER, N.M. 1998. **Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions.** Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, v.29, p.83-112.

KERR, W. E. 1948. **Estudos sobre o gênero Melipona.** An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz [online]. vol.5, pp.181-276. ISSN 0071-1276. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0071-12761948000100005>

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. 1996. **Abelha uruçú: biologia, manejo e conservação.** Belo Horizonte: Acangaú, 143 p.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C.; ASSIS, M. G.P. 2001. **Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica.** Mensagem doce. n.80.

KEVAN, P. G. 1999. **Pollinator as bioindicators of the state of the environment: Species, activity and diversity.** Agric. Ecosyst.Environ., 74, 373-393.

KEVAN, P. G.; VIANA, B. F. 2003. **The global decline of pollination services.** Tropical Conservancy, v.4, n.4, p.3-8.

KHALIFA, S.A.M.; ELSHAFIEY, E.H.; SHETAIA, A.A.; EL-WAHED, A.A.A.;

ALGETHAMI, A.F.; MUSHARRAF, S.G.; ALAJMI, M.F.; ZHAO, C.; MASRY, S.H.D.; ABDEL-DAIM, M.M. et al. **Overview of Bee Pollination and Its Economic Value for Crop Production**. *Insects* 2021, 12, 688. doi: <https://doi.org/10.3390/insects12080688>

KHAN, R. B. 2002. **Toxicity of new pesticides to honey bee *Apis cerana indica* Fabricious**. Master Theses. 97p.

KLEIN, A. M.; VAISSIÈRE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. 2007. **Importance of pollinators in changing landscapes for world crops**. *Proc R Soc B* 274, 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>

KLEINERT, A. M. P.; FONSECA V. L. I. 1995. **Utilização de recursos florais por abelhas sem ferrão em diferentes ecossistemas**. Laboratório de Abelhas, Departamento de Ecologia, IB, USP. Disponível em: <http://www.webbee.org.br/beeplant>>. Acesso em 13 de outubro de 2020.

KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KLUMPP, G. FOMIN, A. 2001. **Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede europeia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (EuroBionet)**. *Revista Brasileira de Botânica*. 24, (4), 511-518.

KORIN Agricultura Natural®. 2020. **Feijão orgânico**. Disponível em:< <https://www.korin.com.br/produtos/mercearia/feijao-organico/>>. Acesso em 03 de novembro de 2020.

KRUNIC, M. D.; HINKS, C. F. 1972. **The effect of temperature and of temperature pretreatment on diapause and on the synchronization of adult emergence in *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae)**. *Can Entomol* 104:889–893. doi: 10.4039/Ent104889-6

LAMARTINE, H. 1962. **A área da abelha uruçú no Nordeste**. *Chácaras e Quintais*, v.106, n.6, p.801.

LAMBERT, O.; PIROUX, M.; PUYO, S.; THORIN, C.; LARHANTEC, M.; DELBAC, F.; POULIQUEN, H. 2012. **Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination**. *Environmental Pollution* 170, 254-259.

LASOTA, J. A.; DYBAS, R. A. 1991. **Avermectins, a novel class of compounds: Implications for Use in Arthropod Pest Control**. *Annu, Rev, Entomo/*. 36:91-/17.

LEE, K. V. et al. 2015. **A national survey of managed honey bee 2013–2014 annual colony losses in the USA**. *Apidologie*, v. 46, n. 3, p. 292-305.

LEITA, L.; MUHLBACHOVA, G.; CESCO, S., BARBATTINI, R.; MONDINI, C. 1996. **Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination**. *Environ. Monit. Assess.*, 43, 1-9.

LEMANSKI, N. J.; BANSAL, S.; FEFFERMAN, N. H. 2020. **The sensitivity of a honeybee colony to worker mortality depends on season and resource availability.** BMC Evol Biol 20, 139. doi: <https://doi.org/10.1186/s12862-020-01706-4>

LIMA, C. 2000. **Flores e insetos: A origem da entomofilia e o sucesso das angiospermas.** Monografia apresentada em Botânica – Centro Universitário de Brasília, Brasília, 28p.

LINSLEY, E. G. 1958. **The ecology of solitary bees.** Hilgardia 27: 543-59.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. M. P. 2004. **Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be used as strawberry pollinator in greenhouses?** Australian Journal of Agricultural Research. v. 55, p. 771- 773.

MALASPINA, O.; SOUZA, T. F.; ZACARIN, E. C. M. S.; CRUZ, A. S.; JESUS, D. 2008. **Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil.** In: ANAIS DO ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 2008, Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto: FUNPEC, p. 41-48.

MAO, W. F.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. 2011. **CYP9Q-mediated detoxification of acaricides in the honey bee (*Apis mellifera*)** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108:12657–12662.

MATTILA, H. R.; HARRIS, J. L.; OTIS, G. W. 2001. **Timing of production of winter bees in honey bee (*Apis mellifera*) colonies.** Insectes Soc, pp. 88-93.

MICHENER, C. D. 1974. **The Social behavior of bees: a comparative study.** Cambridge: The Blacknap.

_____. 2000. **The Bees of the World.** Baltimore, Johns Hopkins University Press, 913 p.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT - MEA. 2005. **Ecosystem and human well-being: a framework for assessment.** Island Press, Washington, DC. Disponível em: <<http://www.millenniumassessment.org>>. Acesso em: 10 de janeiro de 2022.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE- MMA. 1996. **Portaria normativa nº 84, de 15 de outubro de 1996.** Disponível em:< HTTPS://BVSMS.SAUDE.GOV.BR/BVS/SAUDELEGIS/MMA_IBAMA/1996/PRT0084_15_10_1996.HTML> Acesso em 21 de janeiro de 2022.

MINUSSI, L. C.; ALVES-DOS-SANTOS, I. 2007. **Abelhas nativas versus *Apis mellifera*, Linnaeus, espécie exótica (Hymenoptera: Apidae).** Bioscience Journal 23 (1), 58-62.

MOORE, D. 2001. **Honey bee circadian clocks: behavioral control from individual workers to whole-colony rhythms.** Journal of Insects Physiology 47: 843-857. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(01\)00057-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(01)00057-9)

MORADO, C. N.; LORENZON, M. C. A. 2014. **A abelha Jataí: florada visitada na Mata Atlântica.**

NOGUEIRA-COUTO, R. H. 1998. **Uso de atrativos e repelentes na polinização dirigida.** In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto: p.21-27.

NOGUEIRA-NETO, P. 1970. **A Criação de abelhas indígenas sem ferrão.** São Paulo: Tecnapis.

_____. 1997. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão.** Nogueiraps, 446 p.

OLIVEIRA, F. F. de; RICHERS, B. T. T.; SILVA, J. R. da; FARIAS, R. C.; MATOS, T. A. de L. 2013. **Guia Ilustrado das Abelhas “Sem-Ferrão” das Reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** Tefé: IDSM.

OLIVEIRA, M. H. C. C. et al. 1986. **Criação e preservação da abelha *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, no Nordeste Brasileiro.** Cadernos Omega, v.2, p.195-211, 1986.

OLIVIER, L.; MÉLANIE, P.; SOPHIE, P.; CHANTAL, T.; MICHAËLLE, L.; FRÉDÉRIC, D.; HERVÉ, P. 2012. **Honey bees and pollen as sentinels for lead environmental contamination.** Environmental Pollution, 170:254-259.

ÔMURA, S. 2008. **Ivermectin: 25 years and still going strong.** International Journal of Antimicrobial Agents, Amsterdam, v. 31, p. 91-98.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. OECD. 1998. **Guidelines for the testing of chemicals number 213. Honeybees, acute oral toxicity test.** Paris: OEC; Environmental Health ADN Safety Division.

PAGE, R. E.; CHRISTINE, Y.; PENG, S. 2001. **Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L.** Exp Gerontol, 36, pp. 695-711.

PANSERI, S.; CATALANO, A.; GIORGI, A.; ARIOLI, F.; PROCOPIO, A.; BRITTI, D.; CHIESA, L. M. 2014. **Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources.** Food Control (38) 150-156.

PASCHOAL, A. D. 1979. **Pragas, praguicidas e a crise ambiental: problemas e soluções.** Rio de Janeiro: Ed. FGV.

PERCIVAL, M. S. 1965. **Floral biology.** Pergamon Press, London.

PERUGINI, M.; MANERA, M.; GROTTA, L.; ABETE, M. C.; TARASCO, R. 2011. **Heavy Metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) Contamination in Urban Areas and Wildlife Reserves: Honeybees as Bioindicators.** Biological Trace Element. Research, 140, 170-176.

PIOVESAN, B.; PADILHA, A.C.; MORAIS, M. C. et al. 2020. **Effects of insecticides used in strawberries on stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca fiebrigi* (Hymenoptera: Apidae).** Environ Sci Pollut Res 27, 42472–42480. doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10191-7>

PITTS-SINGER, T. L.; CANE, J. H. 2011. **The alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*: the world's most intensively managed solitary bee.** Annu Rev Entomol 56:221–237. doi:10.1146/annurev-ento-120709-144836

PLATAFORMA BRASILEIRA DE BIODIVERSIDADE E SERVIÇOS ECOSISTÊMICOS - BPBES. 2019. **Relatório Temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil.** Disponível em: https://www.bpb.es.net.br/wpcontent/uploads/2019/03/BPBES_CompletoPolinizacao-2.pdf>. Acesso em 10 de fevereiro de 2021.

POHL, P. 2009. **Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries.** Trends in Analytical Chemistry, 28 (1).

PORRINI, C. et al. 2003. **Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination.** Apiacta 38, 63-70.

POTTS, S. G. et al. 2016. **The assessment report on pollinators, pollination and food production: summary for policymakers.**

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. 2010. **Global pollinator declines: trends, impacts and drivers.** Trends Ecol. Evol. 25(6), 345–353. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>

PRZYBYLOWSKIA P.; WILCZYNSKA, A. 2001. **Honey as an environmental marker Food Chemistry.** 74, 289–291.

PROCTOR, M. C. F.; YEO, P. 1972. **The pollination of flowers.** Collins, London.

PROCTOR, M. C. F.; YEO, P.; LACK, A. 1996. **The natural history of pollination.** Portlan: Tiber Press, 476 p.

RECH, A. R.; AGOSTINI; K. OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. 2014. **Biologia da Polinização.** Rio de Janeiro. 527: 71 – 72.

RICHARDS, K. W.; WHITFIELD, G. H.; SCHAALJE, G. B. 1987. **Effects of temperature and duration of winter storage on survival and period of emergence for the alfalfa leafcutter bee (Hymenoptera: Megachilidae).** J Kans Entomol Soc 60:70–76.

ROBINSON, C.; PORTIER, C. J.; CAVOSKI, A.; MESNAGE, R.; ROGER, A.; CLAUSING, P.; WHALEY, P.; MUILERMAN, H.; LYSSIMACHOU, A. 2020. **Achieving a high level of protection from pesticides in Europe: problems with the current risk assessment procedure and solutions.** European Journal of Risk Regulation. 1-31. doi: <https://doi.org/10.1017/err.2020.18>

ROUBIK, D. W. 1989. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge: Cambridge University Press. 514p.

_____ 2006. **Stingless bee nesting biology**. *Apidologie*. V. 37, n 2. P 124 - 143. doi: 10.1051/apido:2006026

SAKAGAMI, S. F.; FUKUDA, H. 1968. **Life tables for worker honeybees**. *Res. Popul. Ecol.* 10(2): 127-139.

SCHRICKER, B.; STEPHEN, W. P. 1970. **The effect of sublethal doses of parathion on honey bee behaviour. I. Oral administration and the communication dance**. *Journal of Apicultural Research*.

SCHWARZ, H. F. 1932. **The Genus *Melipona***. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v.63, p.402-403.

SEELEY, T. D.; VISSCHER, P. 1985. **Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction**. *Ecol Entomol*, 10, pp. 81-88.

SGOLASTRA F.; BOSCH, J.; MOLOWNY-HORAS, R. et al. 2010. **Effect of temperature regime on diapause intensity in an adult-wintering Hymenopteran with obligate diapause**. *J Insect Physiol* 56:185–194.

SILVA, C. I.; PONTES FILHO, A. J. S.; FREITAS, B. M. 2015. **Polinizadores manejados no Brasil e sua disponibilidade para a agricultura**. In: *Agricultura e polinizadores*. 1 ed. São Paulo: A.B.E.L.H.A. – Associação Brasileira de Estudos das Abelhas, p. 19-31.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. 2002. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 253 p.

SIMON-DELISO, N. et al. 2015. **Systemic insecticides (Neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites**. doi: 10.1007/s11356-014-3470-y

SOUZA, D. L.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; PINTO, M. S. C. 2007. **As abelhas como agentes polinizadores**. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. v. VIII, n. 3, p. 1695-7504.

SOUZA, S. V. C.; SILVA, G.; DINIZ, M. H. G. M.; SANTOS, E. V.; LIMA, J. A.; TEODORO, J. C. 2003. **Determinação de resíduos de avermectinas em fígado bovino por cromatografia líquida de alta eficiência**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* v. 23, n. 1, p. 54-58.

STEPHEN, W. P.; BOHART, G. E.; TORCHIO, P. F. 1969. **The biology and external morphology of bees**. *Oregon State Univ. Agricult. Exp. Stat. Corvallis*.

STONER, A.; WILSON, W. T.; HARVEY, J. 1985. **Acephate (Orthene): effects on honey bee queen, brood and worker survival**. *American Bee Journal*.

TERADA, Y.; GAROFALO, C. A.; SAKAGAMI, S. F. 1975. **Age-Survival Curves for Workers of Two Eusocial Bees (*Apis Mellifera* and *Plebeia Droryana*) in a Subtropical Climate, with Notes on Worker Polyethism in *P. Droryana*.** Journal of Apicultural Research, 14(3-4), 161–170.

TUZEN, M.; SILICI, S.; MENDILA, D.; SOYLAK, M. 2007. **Trace element levels in honeys from different regions of Turkey.** Food Chemistry, 103, (2) 325–330.

VIEIRA, M. F. 2014. **Biologia reprodutiva em angiospermas: síndromes florais, polinizações e sistemas reprodutivos sexuais.** Viçosa, MG: Ed. UFV.

WESTERKAMP, C.; GOTTSBERGER, G. 2002. **The Costly crop pollination crisis.** In: KEVAN, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. (Ed.). Pollinating bees – the conservation link between agriculture and nature. Brasília: MMA, p.51-56.

WITTER, S.; NUNER-SILVA, P. 2014. **Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos).** 1. ed. - Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul.

WOLFF, L. F. B. 2000. **Efeitos dos agrotóxicos sobre a apicultura e a polinização de soja, citros e macieira.** In: Congresso Brasileiro de apicultura Florianópolis, SC, Anais.

WOLSTENHOLME, A. J. 2010. **Recent progress in understanding the interaction between avermectins and ligand-gated ion channels: putting the pests to sleep.** Invertebrate Neuroscience., v. 10, p. 5-10.

