



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MONOGRAFIA

Avaliação do comportamento e do perfil bioquímico de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* Lepeletier) expostas ao herbicida glifosato por ingestão

Hadja Lorena Rangel Uchôa Cavalcanti de Menezes Costa

Recife – PE

Novembro de 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MONOGRAFIA

Avaliação do comportamento e do perfil bioquímico de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* Lepeletier) expostas ao herbicida glifosato por ingestão

Hadja Lorena Rangel Uchôa Cavalcanti de Menezes Costa
Graduanda

Prof.^a Dra. Renata Valéria Regis de Sousa Gomes

Recife - PE
Novembro de 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C837a Costa, Hadja Lorena Rangel Uchôa Cavalcanti de Menezes
Avaliação do comportamento e do perfil bioquímico de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* Lepeletier) expostas ao herbicida glifosato por ingestão / Hadja Lorena Rangel Uchôa Cavalcanti de Menezes Costa. - 2019.
31 f. : il.
- Orientadora: Renata Valéria Regis de Sousa Gomes.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Zootecnia, Recife, 2019.
1. Abelhas desorientadas. 2. Agrotóxico. 3. Herbicida. 4. Moléculas nutricionais. 5. Nutrição. I. Gomes, Renata Valéria Regis de Sousa, orient. II. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

HADJA LORENA RANGEL UCHÔA CAVALCANTI DE MENEZES COSTA
Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Zootecnia como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em/...../.....

EXAMINADORES

Orientadora
Prof.^a Dra. Renata Valéria Regis de Sousa Gomes

Examinador
Prof. Dr. Júlio César dos Santos Nascimento

Examinador
MSc. Hilton Nobre da Costa

Agradeço e dedico este trabalho aos meus pais. Esta monografia é a prova de que todo seu investimento e dedicação valeram a pena.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus pais, Emerson e Joelma, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória.

A minha irmã Hanna que sempre esteve presente nos momentos mais difíceis e me incentivou a continuar.

A minhas três cadelinhas, Mel, Morgana e Natasha, que sempre me fizeram rir em momentos de tristeza.

Sou grata também à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida.

Deixo um agradecimento especial a minha orientadora pelo incentivo e pela dedicação do seu escasso tempo ao meu projeto de pesquisa.

A todos os meus amigos do curso de graduação que compartilharam dos inúmeros desafios que enfrentamos, sempre com o espírito colaborativo.

Também quero agradecer à Universidade Federal Rural de Pernambuco e a todos os professores do meu curso pela elevada qualidade do ensino oferecido e que me ensinaram que nada na vida tem receita de bolo, tudo tem um depende.

SUMÁRIO

	Pag.
LISTA DE TABELAS	06
LISTA DE FIGURAS	07
RESUMO	08
ABSTRACT	09
1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3. REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 Importância das abelhas	13
3.2 Glifosato	14
3.3 Impacto do uso do glifosato sobre as abelhas	15
3.4 Carboidratos, lipídios e proteínas no corpo dos insetos	15
4. MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 Montagem e organização	17
4.2 Coleta das abelhas	17
4.3 Execução do experimento	18
4.4 Análises comportamentais	18
4.5 Análises bioquímicas	18
4.6 Análise estatística	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1 Resultados	20
5.1.1 Etapa 1	20
5.1.2 Etapa 2	21
5.2 Discussão	23
6. CONCLUSÃO	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

LISTA DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1 – Médias e desvio padrão do comportamento das abelhas com 6 horas de exposição aos tratamentos: T1 (controle), T2 e T3	20
Tabela 2 – Frequência relativa média do comportamento das abelhas durante o período de 6, 12, 18 e 24 horas de exposição para ingestão dos tratamentos: T1 (controle), T2 e T3	22
Tabela 3 – Médias e desvio padrão do perfil bioquímico das abelhas por tratamento após 24 horas de ingestão	22

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1 – Arena para instalação do experimento	14
Figura 2 – Amostras de abelhas coletadas para a realização das análises comportamental e bioquímica	17
Figura 3 – Macerado de abelhas para análise bioquímica	19
Figura 4 – Análise do comportamento das abelhas com 6 horas de exposição aos tratamentos: T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada).....	21
Figura 5 – A esquerda: abelha morta; No centro: abelhas sobre a plataforma de alimentação	21
Figura 6 – Análise discriminante do perfil bioquímico dos tratamentos T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada) com 24h de experimento	23

RESUMO

A utilização cada vez maior de defensivos agrícolas nos sistemas de produção como forma de eliminar pragas ou remover plantas daninhas vem impactando na sobrevivência dos insetos polinizadores desses cultivos. Dentre os quais, as abelhas vêm sendo as mais prejudicadas, sendo relatados casos de diminuição alarmante do número de colônias ao redor do mundo. Com o uso cada vez mais elevado de herbicidas a base de glifosato surge a necessidade de avaliar os impactos que esse pesticida causa nas abelhas, visto que elas são responsáveis por polinizar 73% dos vegetais cultivados no mundo e, seu desaparecimento pode causar sérios prejuízos a economia. O objetivo da pesquisa foi avaliar as alterações comportamentais e bioquímicas decorrentes da exposição por ingestão de abelhas africanizadas ao princípio ativo glifosato. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Genética Animal e Melhoramento de Abelhas do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DZ/UFRPE), e foi dividida em duas etapas: 1 - Bioensaio preliminar com tempo de exposição de 6 horas; e 2 - Bioensaio com 24 horas de exposição. Os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando a utilização de 90 abelhas operárias nas duas etapas. Durante a execução dos experimentos as abelhas foram mantidas em ambiente climatizado com temperatura média de $23,9 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e umidade de 50%, distribuídas em três tratamentos, formando os seguintes grupos: T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada, T2: 960 μL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada), e T3: 1.920 μL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada). O produto comercial utilizado foi o Roundup®, sendo utilizada a dose mínima indicada pelo fabricante. O comportamento das abelhas foi observado a cada 30 minutos. As análises bioquímicas realizadas foram referentes a conteúdo de lipídio, açúcar total, glicogênio e proteínas. Observou-se alterações no comportamento das abelhas a partir de 2h de exposição, apresentando as abelhas dos tratamentos T2 e T3 comportamento de desorientação e letargia, diferindo estatisticamente do T1 (controle). As primeiras mortes das abelhas ocorreram nos tratamentos T2 e T3 nas primeiras 6 horas de experimento. Na análise bioquímica observou-se redução nos valores de glicogênio e açúcares totais dos tratamentos com inclusão de glifosato (T2 e T3), diferindo significativamente do tratamento controle. Os valores de proteínas e lipídios não apresentaram diferença estatística significativa entre os três tratamentos. Concluiu-se que a ingestão do glifosato ocasionou alterações comportamentais e nos parâmetros bioquímicos das abelhas africanizadas.

Palavras-chave: abelhas desorientadas, agrotóxico, herbicida, moléculas nutricionais, nutrição.

ABSTRACT

The increasing use of pesticides in production systems as a way to eliminate pests or weeds has impacted the survival of pollinating insects of these crops. Among these, bees have been the most harmed, and there have been reports of alarming declines in the number of colonies around the world. With the increasing use of glyphosate-based herbicides, there is a need to assess the impacts of this pesticide on bees, as bees are responsible for pollinating 73% of the world's cultivated vegetables and their disappearance can cause serious damage to the economy. The objective of this research was to evaluate the behavioral and biochemical alterations resulting from the ingestion exposure of Africanized bees to glyphosate active ingredient. The research was conducted at the Animal Genetics and Bee Breeding Laboratory of the Department of Zootechnics of the Federal Rural University of Pernambuco (DZ / UFRPE), and was divided into two stages: 1 - Preliminary bioassay with exposure time of 6 hours; and 2 - Bioassay with 24 hours of exposure. The experiments were performed in triplicate, totaling the use of 90 worker bees in both stages. During the experiments, the bees were kept in a climate-controlled environment with an average temperature of 23.9 ± 0.8 ° C and 50% humidity, distributed in three treatments, forming the following groups: T1 (control) - 1: 160 sucrose and 60 mL distilled water, T2: 960 µL glyphosate added to 120 mL syrup (1: 160 g sucrose and 60 mL distilled water), and T3: 1,920 µL glyphosate added to 120 mL syrup (1: 160 g sucrose and 60 mL distilled water). The commercial product used was Roundup®, using the minimum dose indicated by the manufacturer. Bees' behavior was observed every 30 minutes. The biochemical analyzes performed were related to lipid, total sugar, glycogen and protein content. Behavioral alterations are observed after 2h of exposure, showing as desorientation and lethargy behavior as controls T2 and T3 bees, differing statistically from T1 control. The first bee deaths occur at T2 and T3 within the first 6 hours of the experiment. In the biochemical analysis used, glycogen and sugars values are reduced, totaling the effects of glyphosate inclusion (T2 and T3), differing from the use of treatment control. The protein and lipid values did not present statistically significant difference between the three treated. It was concluded that an ingestion of glyphosate caused behavioral changes and biochemical parameters of Africanized bees.

Keywords: disoriented bees, pesticide, herbicide, nutritional molecules, nutrition.

1. INTRODUÇÃO

Inicialmente utilizados como armas de guerra, os agrotóxicos foram implementados na agricultura a pouco mais de meio século e, em curto espaço de tempo se tornaram amplamente difundidos dentro da indústria agrícola. Essa mudança deu-se devido ao fim das grandes guerras mundiais onde as indústrias produtoras desse até então veneno, encontraram na agricultura novo mercado para seus produtos (LONDRES, 2011). São utilizados com os objetivos proteger as plantações de pragas e doenças (MAIA *et al.*, 2018) auxiliando no aumento da produtividade (CARVALHO, 2006), entretanto, pelo uso cada vez mais indiscriminado e inadequado desses produtos sintéticos na indústria (LONDRES, 2011), vem surgindo problemas ambientais graves que põe em risco o ecossistema terrestre e aquático, causando problemas de contaminação, colocando em perigo os organismos que habitam o ecossistema (CRUZ; FARIAS, 2017).

Dentre todos os organismos afetados pelo uso intensivo de agrotóxicos, o destaque se dá as abelhas, especificamente a *Apis mellifera*. Essa espécie de abelha possui um perfil mais generalista na busca de recursos (MOUGA; NOGUEIRA-NETO, 2005) que outras espécies de abelhas e, graças a essa característica, presta um fundamental papel como polinizadora, principalmente das espécies produtoras de alimento, além de possuírem um importante papel na manutenção dos ecossistemas e no aumento da produtividade da agricultura e na produção de alimentos (CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS, 2017).

Segundo dados publicados, em 2018, pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), as abelhas são responsáveis por cerca de um terço da produção mundial de alimentos, sendo consideradas, entre os polinizadores, os mais importantes. E, por estarem relacionadas aos processos de polinização dos cultivos agrícolas que esses insetos correm perigo, pois acabam contaminando-se, seja por contato ou por ingestão, de agrotóxicos lançados nas unidades de cultivo.

Essa exposição pode levar a perdas de colônias inteiras causando sérios danos a economia mundial o que pode acarretar prejuízos de milhares de dólares por ano levando a diminuição considerável na quantidade e na qualidade dos alimentos de origem vegetal produzidos (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012). Embora esse pareça ser um cenário extremo, Potts *et al.* (2010) relataram drástico declínio de abelhas *A. mellifera* ao redor do mundo, sobretudo nos Estados Unidos da América e em países da Europa.

Dentre os fatores que levam a esse declínio citar-se: a destruição dos habitats (VIANNA

et al., 2007), a perda de diversidade e genética, pragas e patógenos e a exposição aos agrotóxicos, sendo este último, o fator prioritário de risco para todas as espécies de abelhas que atuam na polinização desses sistemas (REQUIER *et al.*, 2015).

No Brasil, um dos herbicidas mais utilizados é o organofosforado Roundup®, sendo seu princípio ativo o glifosato N-(fosfonometil) glicina (ARMILIATO, 2014). O glifosato é um herbicida sistêmico de amplo espectro (MATALLO *et al.*, 2010) de grande importância dentro da agricultura principalmente quando se trata de culturas geneticamente modificadas, além disso, ele pode ser aplicado em baixos volumes de calda quando comparado a herbicidas convencionais (MORAES; ROSSI, 2010).

O glifosato é o princípio ativo que prevalece nos pesticidas utilizados principalmente em monoculturas como o milho, soja e cana-de-açúcar (PIGNATI *et al.*, 2017). No mercado mundial, dentre os herbicidas não seletivos, 60% das vendas são de produtos que possuem em sua composição esse princípio ativo (AMARANTE JUNIOR; SANTOS, 2002), sendo comercializado em mais de cento e vinte países e, registrado para uso em mais de uma centena de culturas (MONSANTO, 2019). Apenas no Brasil, no ano de 2018, foram comercializadas 195 milhões de toneladas desse ingrediente ativo (IBAMA, 2019).

Apesar de ser liberado para uso e de ser reconhecido como um produto de baixa toxicidade, há evidências de impacto pela utilização de glifosato no meio ambiente (GOMES, 2017), que vem aumentando à medida que cresce a introdução de culturas transgênicas resistentes ao glifosato, levando a aumentos cada vez maiores da aplicação desse herbicida em áreas agrícolas, podendo gerar consequências para diversos organismos, dentre eles os polinizadores (RUIZ-TOLEDO; SÁNCHEZ-GUILLÉN, 2014).

Embora se mostre relevante, os estudos que avaliam a toxicidade de herbicidas assim como seus efeitos sub-letais no comportamento de abelhas e as alterações bioquímicas, como carboidratos lipídios e proteínas, decorrentes dessa exposição, são recentes e escassos, sendo necessária a continuidade dessas pesquisas de modo a compreender qual impacto desses compostos para as espécies de abelhas próximas a ambientes onde existe sua aplicação nos cultivos (GOMES, 2017).

A recente e constante mortandade em massa das abelhas leva ao surgimento das seguintes perguntas: Qual o impacto do herbicida glifosato no comportamento das abelhas e quais alterações são provocadas no organismo desses insetos?

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar as alterações comportamentais e bioquímicas decorrentes da exposição por ingestão de abelhas africanizadas ao princípio ativo glifosato.

2.2 Específicos

a) Avaliar o comportamento das abelhas após ingestão de glifosato quanto a desorientação, letargia e morte;

b) Analisar os parâmetros metabólicos (proteínas, açúcares totais, glicogênio e lipídios) das abelhas africanizadas após consumo de alimento contaminado com glifosato.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Importância das abelhas

As abelhas pertencem à ordem dos himenópteros e família Apidae (DOMINGOS *et al.*, 2016). Estima-se que existam mais de 20 mil espécies de abelhas espalhadas por todo o mundo sendo o Brasil o detentor de 1/4 do total destas espécies graças as suas proporções continentais e riqueza de ecossistemas (SANTOS, 2002).

Ao contrário do que muitos pensam, a importância das abelhas *A. mellifera* não se dá apenas por conta da produção de mel, geleia real, cera, própolis e seu veneno, embora sejam esses produtos amplamente utilizados e explorados pelo homem, é na polinização dos diferentes ecossistemas que as abelhas se destacam (MURILHAS, 2008). Elas são responsáveis por 90% do sucesso reprodutivo das plantas com flores das culturas agrícolas ao redor do mundo, e consideradas os polinizadores mais importantes dessas culturas (CRUZ; CAMPOS, 2009).

A interação planta-polinizador é uma relação mutualística que envolve ganhos para ambos os grupos: os animais polinizadores coletam alimentos ou recursos (principalmente pólen e néctar) e suas atividades facilitam a reprodução das plantas (GIANNINI *et al.*, 2014). Essa atuação das abelhas auxilia na manutenção da biodiversidade dos ecossistemas, de modo que o desaparecimento dos principais polinizadores poderia levar a sérias consequências (GOMES, 2017), como a diminuição drástica de algumas culturas agrícolas que dependem estritamente dos polinizadores para sua reprodução (ASSIS, 2014).

Com relação a questão econômica, os serviços de polinização prestados no mundo todo rendem por ano €153 milhões (GALLAI *et al.*, 2009). No Brasil, estudos realizados por Giannini *et al.* (2015), mostram valores de US\$ 12 bilhões por ano, para 44 culturas, o que representa 30% do valor total da produção de US\$ 45 bilhões, sendo a soja a mais representativa, com US\$ 5,7 bilhões, seguida do café com US\$ 1,9 bilhões, tomate com US\$ 992 milhões, algodão com US\$ 827 milhões, cacau com US\$ 533 milhões e laranja com US\$ 522 milhões.

Sendo as abelhas, responsáveis por cerca de 80% do total dos produtos agrícolas que são polinizados por insetos (COSTA-MAIA *et al.*, 2010). Isso mostra sua importância não só econômica como também ambiental, visto que são fundamentais para manutenção da biodiversidade, principalmente as abelhas *A. mellifera* que, além de serem as mais exploradas comercialmente no mundo para a polinização de plantas cultivadas, apresentam grande abundância em diferentes ecossistemas e possuem perfil generalista na busca de recursos, podendo obter pólen de ampla variedade de espécies vegetais (LIMA *et al.*, 2019).

3.2 Glifosato

O glifosato é um herbicida de amplo espectro caracterizado por ter alta eficiência na eliminação de plantas daninhas anuais e perenes de forma não seletiva (RUEPPEL *et al.*, 1977). Esse herbicida é não-seletivo, sistêmico, pós-emergente (AMARANTE JUNIOR; SANTOS, 2002), vem ganhando terreno dentro do mercado de herbicidas, sendo impulsionado principalmente por fatores como a crescente demanda por sistemas de plantio direto. O mercado deverá atingir US\$ 8,79 bilhões até o final de 2019 (TRANSPARENCY MARKET RESEARCH, 2018). Apenas no Brasil foram consumidos em 2017, 173 milhões de toneladas desse herbicida, tendo aumentado para 195 milhões no ano seguinte (IBAMA, 2018, 2019).

O glifosato, ou [N- (fosfonometil) glicina], controla as ervas-daninhas através da inibição da síntese de aminoácidos aromáticos, que são necessários para a formação das proteínas nessas plantas (REZENDE *et al.*, 2017). Esse herbicida costuma ser pulverizado nos cultivos e, é absorvido pelas folhas e folhagem de plantas em crescimento. Diferente de outros organofosforados, o glifosato não atua na inibição da enzima colinesterase, sua ação inibe a atividade da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), sem essa enzima não a conversão do chiquimato em corismato o que por sua vez afeta a síntese de fenilalanina, tirosina e triptofano que são aminoácidos essenciais para a planta, afetando a síntese de enzimas e proteínas (BAI; OGBOURNE, 2016; IARC, 2015; RICHMOND, 2018).

As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em poucos dias ou semanas e, devido ao transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive (AMARANTE JUNIOR; SANTOS, 2002).

Apesar de ser liberado para uso e de ser reconhecido como um produto de baixa toxicidade há evidências de impacto pela utilização de glifosato no meio ambiente (GOMES, 2017), que vem aumentando a medida que cresce a introdução de culturas transgênicas resistentes ao glifosato levando a aumentos cada vez maiores da aplicação desse herbicida em áreas agrícolas, podendo gerar consequências para diversos organismos dentre eles as abelhas (RUIZ-TOLEDO; SÁNCHEZ-GUILLÉN, 2014).

A intensificação do uso desses compostos acaba levando a uma perda na diversidade floral para dar lugar a grandes unidades de cultivo homogêneo, onde são removidas qualquer espécie vegetal que não aquela de interesse do homem, impactando os polinizadores de maneira direta ou indireta, levando a diminuição das fontes de recursos desses animais e seus habitats (NICHOLLS; ALTIERI, 2012).

As abelhas podem se contaminar com esse herbicida ao entrar em contato direto consumindo água, néctar ou pólen contaminados, causando efeitos sub-letais pouco conhecidos, visto que ainda são poucas as pesquisas voltadas para essa área (RUIZ-TOLEDO; SÁNCHEZ-GUILLÉN, 2014).

3.3 Impacto do uso de glifosato sobre as abelhas

Embora sejam poucas as pesquisas em relação ao efeito do herbicida glifosato sobre as abelhas *A. mellifera*, alguns trabalhos já vêm mostrando o efeito prejudicial que o glifosato apresenta sobre as abelhas. Gomes (2017) ao realizar bioensaios em laboratório utilizando abelhas *Melipona capixaba* e *A. mellifera*, constatou efeitos deletérios em ambas as espécies causados pela exposição por contato e por ingestão de três diferentes agrotóxicos, sendo um deles o glifosato onde foi observado uma redução na sobrevivência das abelhas.

Resultados semelhantes também foram observados por Ruiz-Toledo e Sanchez-Guillén (2014) que avaliaram a toxicidade das concentrações de campo do glifosato na mortalidade de duas espécies de abelhas, *Apis mellifera* L. e *Tetragonisca angustula* Latreille, que ocorrem na região de Soconusco, Chiapas, México. Em sua pesquisa os autores não encontram diferença estatística significativa na mortalidade entre o grupo exposto a concentração desse herbicida encontrado em corpos d'água em áreas agrícolas dedicadas ao cultivo de soja transgênica e o grupo controle, entretanto quando as abelhas foram submetidas a ingestão de metade da dose comercial sugerida do herbicida, a mortalidade das abelhas aumentou para quase cem por cento.

Os impactos dos agrotóxicos sobre o metabolismo das abelhas podem afetar as vias metabólicas desintoxicantes, intermediárias e energéticas tendo efeito sobre o comportamento, a aprendizagem e a memória alterando o funcionamento ideal do sistema nervoso prejudicando assim a sobrevivência desses insetos (CASTILHOS, 2018).

3.4 Carboidratos, lipídios e proteínas no corpo dos insetos

Os carboidratos, lipídios e proteínas fazem parte do metabolismo energético dos insetos, além de contribuem para a estrutura e função de todos os tecidos (TORRES, 2003). Ao serem ingeridos, esses compostos são utilizados para regulação das funções do organismo, quando essa ingestão é maior que o necessário para realização dessas funções esses compostos são armazenados em três principais estruturas: na musculatura do voo, no corpo gorduroso e ao redor do trato digestivo (CHAPMAN, 1998).

Os carboidratos em excesso são armazenados na forma de glicogênio. Na musculatura alar é uma fonte imediata de energia principalmente para atender as necessidades do voo. Já o glicogênio armazenado no corpo gorduroso é convertido em trealose, que é um dos principais açúcares presentes no corpo dos insetos, sendo liberado na hemolinfa para atender as necessidades do organismo (CHAPMAN, 1998; KLOWDEN, 2007).

Os lipídios armazenados nas estruturas têm como principal função o fornecimento de energia, sendo o principal substrato utilizado pelos insetos para as atividades de voos prolongados (KLOWDEN, 2007).

Segundo Klowden (2007), é no corpo gorduroso onde ocorre a maior síntese de proteínas presentes na hemolinfa, as proteínas são de vital importância para o metabolismo energético dos insetos além compor grande parte dos tecidos desses animais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Montagem e organização

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Genética Animal e Melhoramento de Abelhas do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DZ/UFRPE), e foi dividida em duas etapas: 1ª - Bioensaio preliminar com tempo de exposição de 6 horas; e 2ª - Bioensaio com 24 horas de exposição. Para instalação do bioensaio cada unidade experimental foi composta por um recipiente de PVC (Figura 1) de 15 cm de diâmetro por 10 cm de altura, com 15 abelhas operárias.



Figura 1- Arena para instalação do experimento.

4.2 Coleta das abelhas

As abelhas operárias foram coletadas do apiário experimental DZ/UFRPE. Para a coleta das abelhas foram utilizados recipientes plásticos (Figura 2) com furos nas tampas para permitir a entrada e saída do ar. Após serem coletadas as abelhas foram transferidas para as gaiolas de observação. Os experimentos foram realizados em triplicata, totalizando a utilização de 90 abelhas operárias nas duas etapas. A metodologia utilizada foi de Costa *et al.* (2013) com adaptações.



Figura 2- Amostras de abelhas coletadas para a realização das análises comportamental e bioquímicas.

4.3 Execução do experimento

Durante a execução dos experimentos as abelhas foram mantidas em ambiente climatizado com temperatura média de $23,9 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e umidade de 50%, distribuídas em três tratamentos, formando os seguintes grupos: T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada, T2: 960 μL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada), e T3: 1.920 μL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada).

O produto comercial utilizado foi o Roundup® e, foi utilizada a dose mínima indicada pelo fabricante. Para cada 100 mL de xarope utilizou-se 1600 μL do produto, sendo o T2 50% da dose mínima recomendada e o T3 100% da dose. As abelhas permaneceram com recipientes de água nas gaiolas durante a primeira hora e meia do experimento, após esse período a água foi retirada.

O tempo de exposição na etapa 1 foi de 6 horas e na etapa 2 foi de 24 horas. As abelhas foram expostas aos tratamentos 1 hora após terem sido coletadas no apiário.

4.4 Análises comportamentais

Os dados comportamentais foram registrados a cada 30 minutos. Os comportamentos avaliados estão descritos abaixo:

- a) ATIVAS: abelhas com comportamento natural, se movendo rapidamente;
- b) PARADAS: abelhas que não apresentavam movimento por curtos períodos;
- c) DESORIENTADAS: abelhas que voavam em padrões anormais, confusa, caindo do topo frequentemente ou não conseguindo chegar ao topo da arena;
- d) LETÁRGICAS: abelhas com pouca movimentação que permaneciam paradas por longos períodos, e/ou com contrações involuntárias;
- e) INGERINDO ALIMENTO: abelhas que estavam sobre a plataforma de alimentação se alimentando;
- f) MORTAS: abelhas sem vida.

4.5 Análises bioquímicas

Na etapa 1 após 6 horas e na etapa 2 após 24 horas, as abelhas que sobreviveram foram maceradas (Figura 3) e utilizadas para preparo das amostras para análise do perfil bioquímico.

Para cada amostra, foi utilizada uma abelha macerada e, ao homogeneizado foi adicionado 1,0 mL de solução Tampão Fosfato de Sódio 0,1 M (pH 7,2).



Figura 3- Macerado de abelhas para análise bioquímica.

O conteúdo do lipídio, açúcar total e glicogênio foram avaliados utilizando o método de Van Handel (1985a, b). 200 μ L do homogeneizado foi acrescido de 200 μ L de sulfato de sódio mais 800 μ L de metanol e clorofórmio (1:1), e centrifugado a 2000 rpm durante 2 minutos. O precipitado foi usado para a análise de glicogênio, e o sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio onde foram separados o lipídio e o açúcar. Os lipídios foram analisado espectrofotometricamente usando o método de ácido fosfórico-vanilina enquanto o açúcar total e o glicogênio, o método de ácido sulfúrico-antrona. A absorbância foi lida no espectrofotometro a 625 nm.

Para determinar a quantidade de proteína total foi utilizado o método de Bradford (1976) e albumina de soro bovino (BSA) para a curva padrão de proteína.

4.6 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados comportamentais e das variáveis bioquímicas foram analisados por meio da estatística descritiva e da análise de variância, verificando-se a diferença mínima significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A análise discriminante multivariada foi utilizada com o objetivo de discriminar e alocar os diferentes grupos de tratamentos. Os dados foram analisados pelo software estatístico R Core Team (2018).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados

5.1.1 Etapa 1

Com os resultados da 1ª etapa, observou-se comportamento de desorientação após 2 horas de exposição nos tratamentos T2 ($4,53 \pm 4,25$) e T3 ($3,46 \pm 4,53$), e comportamento letárgico após 2h30min, T2 ($5,53 \pm 5,07$) e T3 ($6,46 \pm 6,38$), apresentando estatisticamente diferenças significativas em relação ao tratamento T1 (controle), no qual as abelhas se mantiveram ativas durante todo o experimento (Tabela 1, Figura 4).

Tabela 1 - Médias e desvio padrão do comportamento das abelhas com 6 horas de exposição aos tratamentos: T1 (controle), T2 e T3.

	Ativa	Desorientada	Letárgica
T1	$15,00 \pm 0,00a$	$0,00 \pm 0,00b$	$0,00 \pm 0,00b$
T2	$4,92 \pm 7,04b$	$4,53 \pm 4,25a$	$5,53 \pm 5,07a$
T3	$5,00 \pm 7,07b$	$3,46 \pm 4,53a$	$6,46 \pm 6,38a$

*Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada).

Após 5 horas e meia de ingestão da solução ofertada, constatou-se mortalidade de 6,67% (n=1) no tratamento T3 (Figura 4). Os dados encontrados nas análises bioquímicas não evidenciaram diferenças significativas entre os tratamentos para proteínas totais, açúcares totais, glicogênio e lipídios.

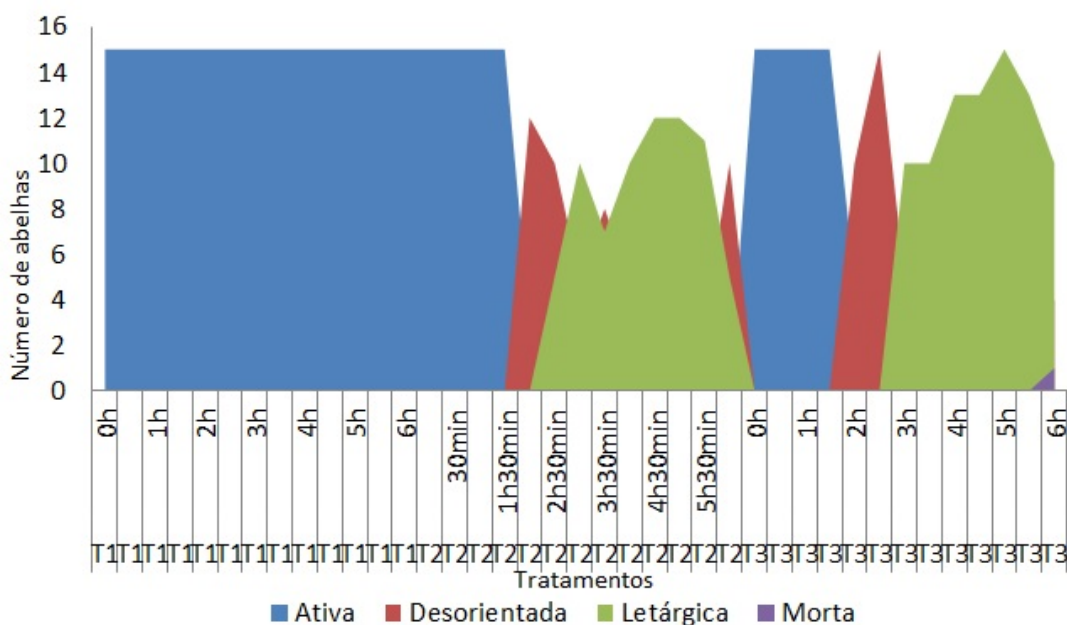


Figura 4 - Análise do comportamento das abelhas com 6 horas de exposição aos tratamentos: T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 μ L de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 μ L de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada).

5.1.2 Etapa 2

Avaliando-se os resultados quanto ao comportamento das abelhas, verificou-se que as primeiras mortes de abelhas (Figura 5) foram nos tratamentos T2 e T3 nas 6 primeiras horas do início do experimento, com a taxa de mortandade de 0,5% no T1, 1,2% no T2 e 2,7% no T3. Observa-se também uma maior frequência de abelhas ingerindo alimento nos tratamentos T2 e T3 (Tabela 2).



Figura 5- A esquerda: abelha morta; No centro: abelhas sobre a plataforma de alimentação.

Tabela 2 - Frequência relativa média do comportamento das abelhas durante o período de 6, 12, 18 e 24 horas de exposição para ingestão dos tratamentos: T1 (controle), T2 e T3.

Horário	Ativa	Parada	Desorientada	Letárgica	Ing. Alim.	Morta
T1						
0h-6h	68	27	-	-	5	-
6h-12h	18,3	81,7	-	-	-	-
12h-18h	10	86,7	-	-	3,3	-
18h-24h	34,3	52	-	-	13,2	0,5
T2						
0h-6h	35	7,8	10	13,9	33,3	-
6h-12h	2,4	-	8,3	56,5	31,5	1,2
12h-18h		-	5,8	85,9	8,3	-
18h-24h	2,4	-	13	72,8	11,8	-
T3						
0h-6h	34,9	7,2	3,6	21,1	32,1	1,2
6h-12h	6,4	-	0,6	63,5	29,5	-
12h-18h	2,6	-	5,8	89,1	2,6	-
18h-24h	5,3	-	22,4	56,3	13,2	2,7

T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada).

Avaliando-se os resultados das análises bioquímicas verificou-se que houve diferença estatística significativa no perfil bioquímico do glicogênio, onde as médias dos tratamentos T2 e T3 foram inferiores ao tratamento controle T1 (Tabela 3). Na análise do açúcar verificou-se que o T1 foi superior e diferiu estatisticamente de T2 e T3, e T2 diferiu estatisticamente de T3. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

Tabela 3 – Médias e desvio padrão do perfil bioquímico das abelhas por tratamento após 24 horas de ingestão.

	Proteína	Glicogênio	Açúcar	Lipídio
T1	54.88±19.55a	1877.13±55.05a	1509.13±115.09a	19.57±15.29a
T2	75.62±22.48a	1666.75±100.80b	890.50±46.80b	54.14±38.89a
T3	75.03±5.74a	1649.38±104.69b	574.62±40.28c	58.71±46.67a

*Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada).

Por meio da análise discriminante foi possível verificar a classificação e alocação dos grupos por tratamentos bem distintos (Figura 6). Em azul o T1, em vermelho o T2 e em verde o T3, todos eles bem agrupados de maneira distinta.

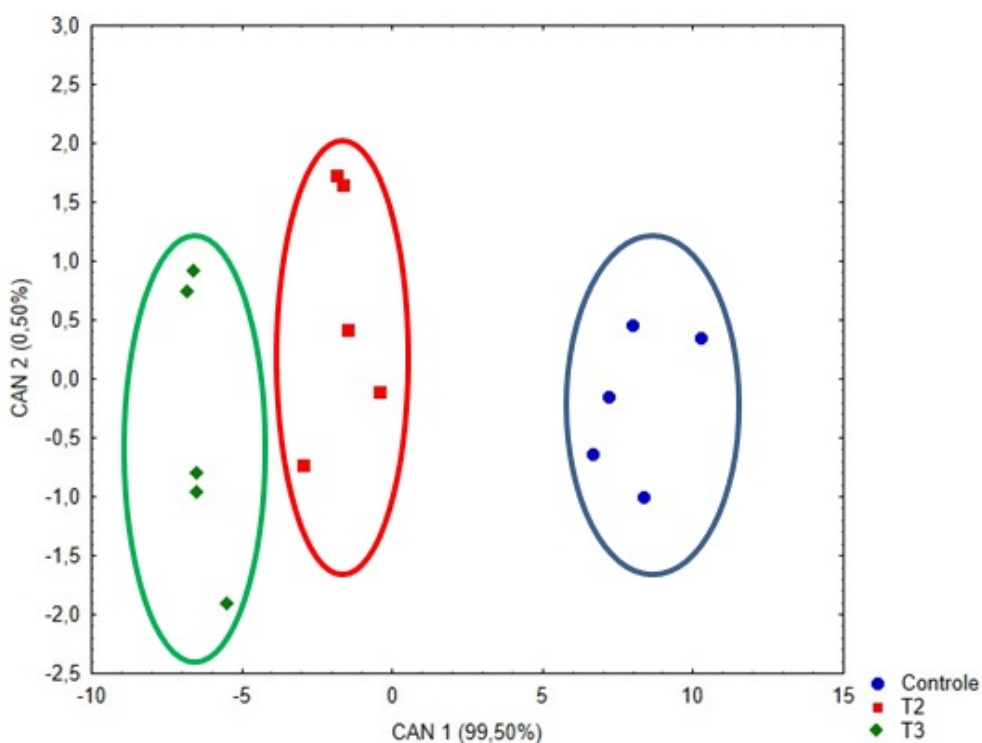


Figura 6 - Análise discriminante do perfil bioquímico dos tratamentos T1 (controle) - 1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada; T2: 960 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada); T3: 1.920 µL de glifosato adicionado a 120 mL de xarope (1:1 60 g de sacarose e 60 mL de água destilada) com 24h de experimento.

5.2 Discussão

No Brasil é crescente a taxa de mortandade em massa de abelhas, sendo que estudos vem demonstrando que essas ocorrências não estão associadas a patógenos ou a parasitas (PIRES et al., 2016). Mas sim, como um dos efeitos dos agrotóxicos, considerando que o Brasil lidera a lista global de perdas de abelhas na América do Sul e análises toxicológicas em amostras de abelhas vivas e mortas detectaram múltiplas contaminações nessas abelhas por agrotóxicos (CASTILHOS *et al.*, 2019).

Essa recente e constante mortandade em massa das abelhas no Brasil, leva ao surgimento das seguintes perguntas: Qual o impacto do herbicida glifosato no comportamento das abelhas e quais alterações são provocadas no organismo desses insetos?

As principais alterações comportamentais observadas nesse experimento foram a desorientação e a letargia, o que aumenta a preocupação por esse herbicida ser amplamente

utilizado no Brasil e seu princípio ativo está presente na formulação de muitos outros herbicidas (IBAMA, 2019). E com o uso intensivo dessas substâncias sintéticas em áreas agrícolas, estudos tem demonstrado alterações na atividade de voo das abelhas, e consequentemente diminuição potencial na capacidade dos serviços de polinização (KENNA *et al.*, 2019).

Stanley e Raine, (2016), sugerem que o comportamento de forrageamento de abelhas em flores reais pode ser alterado pela exposição sub-letal a níveis realistas de pesticidas em campo. Isso tem implicações para o sucesso e a sobrevivência das colônias de abelhas.

Outro efeito que doses sub-letais de pesticidas ocasionam nas abelhas é relacionada a alterações na termorregulação, que podem afetar a atividade de forrageamento das abelhas e uma variedade de tarefas na colmeia, provavelmente levando a consequências negativas no nível da colônia (TOSI *et al.*, 2016).

Ao se avaliar as análises bioquímicas, os únicos componentes que apresentaram diferença estatística foram o glicogênio e açúcares totais. O glicogênio, de ambos os tratamentos com o pesticida, apresentou uma redução e diferiu estatisticamente do grupo controle, entretanto, não diferiu entre si, demonstrando que mesmo com uma dose 50% inferior a dose mínima recomendada, o agrotóxico ocasiona alterações no sistema nutricional da abelha. Resultados semelhantes foram observados por Nath (2003) avaliando o potencial tóxico de inseticidas organofosforados de grau comercial no bicho-da-ceda (*Bombyx mori*), registrou reduções significativas nas reservas de glicogênio no corpo gorduroso desses insetos.

Entretanto, diferente do autor citado acima, os níveis de glicogênio que foram analisados na presente pesquisa foram referentes a todo o glicogênio encontrado no corpo do animal, não apenas na hemolinfa ou em tecidos específicos. Todavia, assim como no experimento anteriormente citado, ocorreu redução nos níveis deste composto para as abelhas que foram expostas tanto a dose completa quanto a metade da dose mínima recomendada pelo fabricante. Essa alteração pode ser explicada pelo mecanismo de ação do glicogênio.

O glicogênio e os açúcares totais fazem parte do grupo dos carboidratos (CHAPMAN, 1998), essa classe de biomoléculas, junto com a classe de lipídios, é uma das principais reservas energéticas presentes no organismo dos insetos. Quando a ingestão de carboidratos é maior do que o organismo está requerendo, esses compostos são convertidos em glicogênio, que é prontamente armazenado nos músculos do voo, corpo gorduroso e ao redor do trato digestivo. O glicogênio armazenado na musculatura alar é uma fonte imediata de energia principalmente para atender as necessidades do voo. Já o glicogênio armazenado no corpo gorduroso é convertido em trealose, que é um dos principais açúcares presentes no corpo dos insetos, para

liberação na hemolinfa para atender as necessidades do organismo (CHAPMAN, 1998; KLOWDEN, 2007).

A exposição a agrotóxicos, em geral, é um causador de estresse em diversos organismos, sua ação pode acarretar letalidade e/ou mudanças metabólicas e bioquímicas nos tecidos de animais expostos a estes contaminantes, podendo levar a alterações fisiológica adaptativa, envolvendo mudanças no balanço metabólico e fisiológico, na tentativa de reestabelecer a homeostase destes organismos (SILVA, 2017).

Para conseguir reestabelecer a homeostase o organismo dispense de energia que vem das reservas de glicogênio, que são quebradas em moléculas de glicose e/ou são convertidas em trealose para alimentar os tecidos, levando assim a uma diminuição tanto nos níveis de glicogênio analisado quanto nos valores de açúcares totais.

Com relação a análise dos lipídios, Cunha *et al.* (2015) estudando os efeitos da pimeprozina nos parâmetros bioquímicos e na ultraestrutura intestinal de *Anthonomus grandis Boheman* (Coleoptera: Curculionidae), observaram redução significativa no conteúdo lipídico, tanto nas primeiras 48 horas como nas 144 horas após o tratamento com o inseticida. No entanto, os valores que foram encontrados na presente pesquisa, ao final das 24 horas não apresentaram diferença estatística em relação a nenhum dos três tratamentos. Essa não diferença estatística significativa, pode estar relacionada ao fato de que as abelhas, dos três tratamentos, passaram a maior parte do tempo sem realizar atividade de voo, como também deve ser considerado o tempo de exposição de apenas 24 horas, inferior ao utilizado por Cunha *et al.*, (2015), não sendo este tempo suficiente para o organismo das abelhas iniciar a degradação dos lipídios para fornecimento de energia. Segundo Klowden (2007), os lipídios são uma forma compacta de armazenamento de energia, e o principal substrato utilizado pelos insetos para as atividades de voos prolongados.

As quantidades de proteína encontrados para os três tratamentos, também não apresentaram diferença estatística entre si, diferindo do que foi encontrado por Nath *et al.* (1997), que apresentou diminuição dos valores de proteína na hemolinfa e no corpo gorduroso de bichos-da-seda *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) quando expostos a doses letais e sub-letais de inseticidas organofosforados após 168 horas. Como pode ter ocorrido com os lipídios, o tempo de exposição das abelhas ao glifosato pode não ter sido suficiente para que ocorrer degradação das proteínas.

6. CONCLUSÃO

A ingestão do glifosato ocasiona alterações comportamentais e modificações nos parâmetros bioquímicos das abelhas africanizadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R. GLIFOSATO: PROPRIEDADES, TOXICIDADE, USOS E LEGISLAÇÃO. *Quim. Nova*, v. 25, n. 4, p. 589 – 593, 2002.

ARMILIATO, N. **TOXICIDADE CELULAR E BIOQUÍMICA DO GLIFOSATO SOBRE OS OVÁRIOS DO PEIXE *Danio rerio***. 2014. 109 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Santa Catarina.

ASSIS, L. **Polinizadores em risco de extinção são ameaça à vida do ser humano**. 2014. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/informma/item/9976-polinizadores-em-risco-de-extincao-e-ameaca-a-vida-do-ser-humano>. Acesso em: 5 dez 2019.

BAI, S. H.; OGBOURNE, S. M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environ Sci Pollut Res*, oct 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of dye-binding. *Anal. Biochem.*, v. 72, p. 248 – 254, 1976.

CARVALHO, F. P. Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*, v. 9, p. 685 – 692, out. 2006.

CASTILHOS, D. **DESAPARECIMENTO E MORTE DE ABELHAS NO BRASIL, REGIS-TRADOS NO APLICATIVO BEE ALERT**. 2018. 163 p. Tese (Doutorado) — Universidade Federal Rural do Semi-árido.

CASTILHOS, D.; DOMBROSKI, J. L. D.; BERGAMO, G. C.; GRAMACHO, K. P.; GONÇAL-VES, L. S. Neonicotinoids and fipronil concentrations in honeybees associated with pesticide use in Brazilian agricultural areas. *Apidologie*, v. 50, p. 657 – 668, 2019.

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

CHAPMAN, R. F. **The Insects: Structure and Function**. 4. ed. [S.l.]: Cambridge University Press, 1998. 788 p.

COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MAIA, A. V. P.; SILVA, F. E. L.; BEZERRA, C. E. S.; SILVA, J. G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. *Apidologie*, v. 45, p. 34 – 44, 2013.

COSTA-MAIA, F. M.; LINO-LOURENÇO, D. A.; TOLEDO, V. A. A. ASPECTOS ECONÔMICOS E SUSTENTÁVEIS DA POLINIZAÇÃO POR ABELHAS. **Sistemas de Produção Agropecuária**, 2010.

CRUZ, D. O.; CAMPOS, L. A. O. POLINIZAÇÃO POR ABELHAS EM CULTIVOS PROTEGIDOS. *R. Bras. Agrociência*, Pelotas, v. 15, n. 1-4, p. 5 – 10, jan-dez 2009.

CRUZ, R. H. R.; FARIAS, A. L. A. IMPACTOS SOCIOAMBIENTAIS DE PRODUÇÃO DE PALMA DE DENDÊ NA AMAZÔNIA PARAENSE: USO DE AGROTÓXICOS. **Revista GeoAmazônia**, Belém, v. 5, n. 10, p. 86 – 109, 2017.

CUNHA, F. M.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A. A. C.; PEREIRA, B. F.; CAETANO, F. H.; TORRES, J. B.; GONÇALVES, G. G. A.; SANTOS, F. A. B. Effects of Pymetrozine on biochemical parameters and the midgut ultrastructure of *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). **Animal Biology**, v. 65, p. 271 – 285, 2015.

DOMINGOS, A. T. S.; NÓBREGA, M. M.; SILVA, R. A. Biologia das abelhas *Apis mellifera*: Uma revisão bibliográfica. **ACTA Apícola Brasilica**, Paraíba, v. 4, p. 08 – 12, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **A importância das abelhas na biodiversidade e sua contribuição para a segurança alimentar e nutricional**. Libreville: [s.n.], 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/sao-tome-e-principe/noticias/detail-events/en/c/1133316/>. Acesso em: 22 nov. 2019.

GALLAI, N.; SALLES, J.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B. E. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Environmental Science**, v. 68, p. 810 – 821, jan. 2009.

GIANNINI, T. C.; BOFF, S.; CORDEIRO, G. D.; CARTOLANO JUNIOR, E. A.; VEIGA, A. K.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SARAIVA, A. M. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. **Apidologie**, v. 46, p. 209 – 223, 2014.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY**, v. 108, n. 3, p. 1 – 9, 2015.

GOMES, I. N. **BIOENSAIOS EM LABORATÓRIO INDICAM EFEITOS DELETÉRIOS DE AGROTÓXICOS SOBRE AS ABELHAS *Melipona capixaba* E *Apis mellifera***. 2017. 51 p. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Viçosa.

HANDEL, E. V. Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 1, p. 299 – 301, 1985a.

HANDEL, E. V. Rapid determination of total lipids in mosquitoes. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 1, p. 302 – 304, 1985b.

IARC. **SOME ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDES AND HERBICIDES. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**, v. 112, 2015.

IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2018. Disponível em: https://www.ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594&Itemid=54. Acesso em: 5 dez 2019.

IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2019. Disponível em: https://www.ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594&Itemid=54. Acesso em: 5 dez 2019.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GONÇALVES, L. S.; FRANCOY, T. M.; NUNES-SILVA, P. O Desaparecimento das Abelhas Melíferas (*Apis mellifera*) e as Perspectivas do Uso de Abelhas Não Melíferas na Polinização. **Documentos Embrapa Semiárido**, Petrolina, v. 249, p. 210 – 233, 2012.

KENNA, D.; COOLEY, H.; PRETELLI, I.; RODRIGUES, A. R.; GILL, S. D.; GILL, R. J. Pesticide exposure affects flight dynamics and reduces flight endurance in bumblebees. **Ecology and Evolution**, 2019.

KLOWDEN, M. J. **Physiological systems in insects**. 2. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2007.

LIMA, I. S.; PINTO, K. D. S.; FRANÇA, F. B.; BRIGHENTI, C. R. G.; SERPA, D. C.; BRIGHENTI, D. M. Abordagem Bayesiana do modelo logístico no estudo do herbicida glifosato em abelhas. **Sigmae**, Alfenas, v. 8, n. 2, p. 282 – 289, 2019.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. 1ª. ed. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.

MAIA, J. M. M.; LIMA, J. L.; ROCHA, T. J. M.; FONSECA, S. A; MOUSINHO, K. C.; SANTOS, A. F. Perfil de intoxicação dos agricultores por agrotóxicos em Alagoas. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 486 – 504, mai/ago 2018.

MATALLO, M. B.; ALMEIDA, S. D. B.; CERDEIRA, A. L.; FRANCO, D. A. S.; LUCHINI, L. C.; MOURA, M. A. M.; DUKE, S.O. MONITORAMENTO DO ÁCIDO CHIQUÍMICO NO MANEJO DE PLANTAS DANINHAS COM GLIFOSATO EM POMAR COMERCIAL DE CITROS. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 355 – 358, abr./jun. 2010.

MONSANTO. **ROUNDUP®**. 2019. Disponível em: <http://roundup.com.br/roundup>. Acesso em: 5 dez 2019.

MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 3, p. 22 – 35, 2010.

MOUGA, D. M. D. S.; NOGUEIRA-NETO, P. **As comunidades de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em Mata Atlântica na região nordeste do Estado de Santa Catarina, Brasil (2005)**. 2005. 171 p. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo.

MURILHAS, A. M. Apicultura e Polinização: Em que medida poderemos evitar um desastre anunciado? **O Apicultor - Revista de apicultura**, v. 62, p. 7 – 10, 2008. Disponível em: http://www.oapicultor.com/artigos/Apicultura_polinizacao.pdf. Acesso em: 17 nov. 2019.

NATH, B. S. Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 74, p. 73 – 84, 2003.

NATH, B. S.; SURESH, A.; VARMA, B. M.; KUMAR, R. P. S. Changes in Protein Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in Response to Organophosphorus Insecticides Toxicity. **ECOTOXICOLOGY AND ENVIRON-MENTAL SAFETY**, v. 36, p. 169 – 173, 1997.

NICHOLLS, C. I.; ALTIERI, M. A. Plant biodiversity enhances bees and other insect pollinators in agroecosystems. A review. **Agron. Sustain. Dev.**, v. 33, p. 257 – 274, 2012.

PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. S.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, p. 3281 – 3293, 2017.

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 422 – 442, mai. 2016.

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, fev. 2010.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

REQUIER, F.; ODOUX, J. F.; TAMIC, T.; MOREAU, N.; HENRY, M.; DECOURTYE, A.; BRETAGNOLLE, V. Honey bee diet in intensive farmland habitats reveals an unexpectedly high flower richness and a major role of weeds. **Ecological Society of America**, v. 25, p. 881 – 890, jun 2015.

REZENDE, E. C. N.; WASTOWSKI, I. J.; PIRES, D. de J. GLIFOSATO: o falso orvalho dos campos brasileiros. **Anais SNCMA**, v. 8, n. 1, out 2017.

RICHMOND, M. E. Glyphosate: A review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species. **Journal of Environmental Studies and Sciences**, v. 8, p. 416 – 434, dez 2018.

RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J.; MARVEL, J. T. Metabolism and Degradation of Glyphosate in Soil and Water. **J. Agric. Food Chem.**, v. 25, n. 3, 1977.

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

SANTOS, I. A. **A vida de uma abelha solitária**. 2002. Disponível em: <http://www.abelhas.noradar.com/artigos.htm>. Acesso em: 10 set. 2019.

SILVA, P. R. **Influência dos herbicidas Sulfentrazone (Boral®500 SC) e Glifosato (Roundup® Original) na composição bioquímica e nas defesas antioxidantes de *Melanophryniscus admirabilis* (Anura: Bufonidae)**. 2017. 73 p. Dissertação (Mestrado) — Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

STANLEY, D. A.; RAINE, N. E. Chronic exposure to a neonicotinoid pesticide alters the interactions between bumblebees and wild plants. **Functional Ecology**, 2016.

TORRES, M. A. **PAPEL DA TREALOSE NO METABOLISMO DE LARVAS DE *Pyrearinus termitilluminans* (COLEOPTERA: ELATERIDAE) SOB ESTRESSE HÍDRICO**. 2003. 53 p. Dissertação (Mestrado) — Universidade de São Paulo.

TOSI, S.; DÉMARES, F. J.; NICOLSON, S. W.; MEDRZYCKI, P.; PIRK, C. W. W.; HUMAN, H. Effects of a neonicotinoid pesticide on thermoregulation of African honey bees (*Apis mellifera scutellata*). **Journal of Insect Physiology**, 2016.

TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. **Mercado de glifosato para lavouras geneticamente modificadas e convencionais para obter receita no valor de US \$ 8,79 bilhões até 2019**. 2018. Disponível em: transparencymarketresearch.com/pressrelease/glyphosate-market.htm. Acesso em: 7 dez 2019.

VIANNA, M. R.; MARCO JUNIOR, P.; CAMPOS, L. A. O. Manejo de polinizadores e o incremento da produtividade agrícola: uma abordagem sustentável dos serviços do ecossistema. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, fev. 2007.