



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CAMPUS LAGOA DO SINO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA**

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**O HERBICIDA GLIFOSATO PODE CAUSAR ALTERAÇÕES EM
INVERTEBRADOS POLINIZADORES? UM ESTUDO
COMPORTAMENTAL COM ABELHAS OPERÁRIAS.**

Bianca Caroline Antunes

BURI-SP
Maio/2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

O herbicida glifosato pode causar alterações em invertebrados polinizadores? Um estudo comportamental com abelhas operárias.

Bianca Caroline Antunes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal de São Carlos, como exigência para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas e avaliação obrigatória da atividade curricular Trabalho de Conclusão de Curso.

Orientação: Prof. Dr. Marcos Gonçalves Lhano

BURI-SP

Antunes, Bianca Caroline

O herbicida glifosato pode causar alterações em invertebrados polinizadores? Um estudo comportamental com abelhas operárias. / Bianca Caroline Antunes -- 2021.
34f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri
Orientador (a): Marcos Gonçalves Lhano
Banca Examinadora: Elissandra Ulbricht Winkaler, José Augusto de Oliveira David
Bibliografia

1. Comportamento de abelhas operárias expostas ao herbicida glifosato. I. Antunes, Bianca Caroline. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539

17/05/2021

SEI/UFSCar - 0401417 - Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - CCCBio-LS/CCN
Rod. Lauri Simões de Barros km 12 - SP-189, s/n - Bairro Aracaçu, Buri/SP, CEP 18290-000
Telefone: (15) 32569030 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 10/2021/CCCBio-LS/CCN

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso

Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)

FOLHA DE APROVAÇÃO

BIANCA CAROLINE ANTUNES

O HERBICIDA GLIFOSATO PODE CAUSAR ALTERAÇÕES EM INVERTEBRADOS POLINIZADORES? UM ESTUDO COMPORTAMENTAL COM ABELHAS OPERÁRIAS.

Trabalho de Conclusão de Curso

Universidade Federal de São Carlos – Campus Lagoa do Sino

Buri, 17 de maio de 2021

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Marcos Gonçalves Lhano
Membro da Banca 1	Elissandra Ulbricht Winkaler
Membro da Banca 2	José Augusto de Oliveira David



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Gonçalves Lhano, Vice-Coordenador(a) de Curso**, em 17/05/2021, às 13:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Augusto de Oliveira David, Docente**, em 17/05/2021, às 14:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **0401417** e o código CRC **7B759B8B**.

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.008774/2021-50

SEI nº 0401417

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019



Documento assinado digitalmente
Elissandra Ulbricht Winkaler
Data: 20/05/2021 09:53:54-0300
CPF: 028.891.819-36



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BIANCA CAROLINE ANTUNES

**O herbicida glifosato pode causar alterações em invertebrados
polinizadores? Um estudo comportamental com abelhas operárias.**

APROVADA EM: 14/ 05/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. MARCOS GONÇALVES LHANO
Orientador – UFSCar

Prof. Dr. JOSE AUGUSTO DE OLIVEIRA DAVID
Examinador – UFSCar

Profa. Dra. ELISSANDRA ULBRICHT WINKALER
Examinadora – UFRB

A minha irmã Luana, o combustível da minha busca por um mundo melhor...

*"Me levanto
sobre o sacrifício
de um milhão de mulheres que vieram antes
e penso:
O que é que eu faço
para tornar esta montanha mais alta
para que as mulheres que vierem depois de mim
possam ver além?"*

Rupi Kaur

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais pela vida. Em especial, a minha mãe Vaneide, por além da vida, ter me dado todo o carinho, amparo e incentivo a tudo que me propus a fazer. Minha avó Zenaide, por me fazer sentir que posso muito mais do que acredito. A minha irmã Luana por ser motivação para minha busca por um mundo mais inclusivo e justo.

Ao meu orientador Prof.Dr. Marcos Gonçalves Lhano, pela orientação deste trabalho tão importante para meu aprendizado e desenvolvimento. Ao Prof.Dr. Gilmar Perbiche-Neves, por todo apoio em minha trajetória durante a graduação e aos demais professores, os quais, durante todos esses anos, me estenderam a mão e me trataram sempre com muito carinho e respeito.

As minhas amigas, por toda troca e vivência. Muito do que conquistei durante esse período, só foi possível graças a essa cumplicidade. Em especial a Amanda Maria, Letícia Gonçalves e Kátilla Ferreira pela elaboração deste projeto.

E a minha grande amiga Catu, que embora não esteja mais presente entre nós, detém um legado de luta, força e gentileza, a qual iremos para sempre cultivar.

Por fim, a Universidade Federal de São Carlos por me proporcionar anos incríveis de superação e aprendizado.

RESUMO

Antunes, Bianca Caroline. O herbicida glifosato pode causar alterações em invertebrados polinizadores? Um estudo comportamental com abelhas operárias.

Bacharelado em Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri, 2021.

Resumo. A exposição de abelhas a campos agrícolas com presença de agrotóxicos tem alarmado a sociedade frente às possíveis consequências desse contato. O objetivo deste estudo foi observar possíveis alterações comportamentais de abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lapeletier 1836), após exposição ao herbicida glifosato. Para isso, foram utilizados dois métodos de exposição (ingestão e pulverização) e duas concentrações (1 mL^{-1} e $0,01 \text{ mL}^{-1}$), durante um período de 24 horas. Esperava-se que a maior concentração do herbicida acarretaria em alterações comportamentais dos indivíduos. Analisou-se comportamentos de contato (comunicação entre dois indivíduos), mobilidade (capacidade de alçar voo), tremores e agrupamento (comunicação entre três ou mais indivíduos). A mortalidade dos indivíduos também foi avaliada. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Sisvar®, testando-se inicialmente a normalidade dos dados (Shapiro-Wilk) e a variância (Tukey). No método de ingestão, observou-se que, na maior concentração (1 mL^{-1}), houve uma diminuição do contato entre abelhas ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0129$), diminuição da mobilidade ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0007$), tremores ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0000$) e significância na mortalidade ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0027$). Por pulverização, na maior concentração testada, o agrupamento das abelhas diminuiu ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0179$), a mobilidade aumentou ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0412$) e a mortalidade foi significativa ($\text{Pr}>\text{Fc } 0,0022$). Confirmou-se que maiores concentrações do herbicida podem afetar o comportamento de abelhas; contudo, o método de pulverização foi o que acarretou em maior mortalidade. Concluímos que o glifosato pode influenciar os é prejudicial aos padrões comportamentais de *A. mellifera scutellata* e pode estar relacionada com da mortalidade.

Palavras-chave: Agrotóxico; Etologia; Apis

ABSTRACT

Antunes, Bianca Caroline. Can the glyphosate herbicide cause changes in pollinator invertebrate? A behavioral study with worker bees. Bacharelado em Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri, 2021.

Abstract. The exposure of bees to agricultural fields with use of pesticides has alarmed society because of the possible consequences of this contact. The aim of this study was to observe possible behavioral changes in Africanized bees (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier 1836), after exposure to the herbicide glyphosate. Two methods of exposure (ingestion and spraying) and two concentrations (1 mL⁻¹ and 0.01 mL.L⁻¹) were used, in a period of 24 hours. It was expected that the higher concentration of the herbicide would result in behavioral changes in individuals. Contact behavior (communication between two individuals), mobility (ability to take flight), tremors and grouping (communication between three or more individuals) were analyzed. Individuals' mortality was counted. Statistical analyzes were performed using the Sisvar® software, with initial test of normality data (Shapiro-Wilk) followed by variance (Tukey). In the ingestion method, it was observed that, in the higher concentration (1 mL⁻¹), there was a decrease in contact between bees (Pr > Fc 0.0129), decreased mobility (Pr > Fc 0.0007), tremors (Pr > Fc 0.0000) and significant mortality (Pr > Fc 0.0027). With spraying method, at the highest concentration the grouping of bees decreased (Pr > Fc 0.0179), mobility increased (Pr > Fc 0.0412) and significant mortality (Pr > Fc 0.0022). It was noticed that higher concentrations of the herbicide can affect the behavior of bees; also, the spray method resulted in a higher mortality. We conclude that glyphosate can be harmful and influence the behavioral patterns of *A. mellifera scutellata*, and may be related to their mortality.

Keywords: Pesticide; Ethology; Apis.

SUMÁRIO

1. Referencial Teórico	1
1.1 Histórico dos pesticidas e classificação.....	1
1.2 Uso de agrotóxicos e suas possíveis consequências.....	2
1.3 A relação entre <i>Apis mellifera</i> e o herbicida glifosato.....	5
1.4 <i>Apis mellifera</i> e seu desenvolvimento no Brasil.....	7
1.5. Objetivos	9
1.5.1. Objetivos gerais	9
1.5.2. Objetivos específicos	9
2. Artigo	10
2.1. Introdução	12
2.2. Material e Métodos	15
2.2.1. Período e Área de Estudo	15
2.2.2. Coleta dos bioindicadores	15
2.2.3. Teste de Exposição Aguda	16
2.2.4. Coleta de dados/Avaliação do comportamento	17
2.2.5. Análises Estatísticas	18
2.3. Resultados e Discussão	18
2.4. Conclusão	23
2.5 Referências Bibliográficas	23
3. Conclusões	31
4. Referências Bibliográficas	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comportamento observados na metodologia de ingestão	29
Figura 2. Mortalidade observada na metodologia de ingestão e contato	29
Figura 3. Comportamentos observados na metodologia por contato	30

1. Referencial Teórico

1.1 Histórico dos agrotóxicos e classificação

Uma das problemáticas que pode gerar déficits em produções agrícolas são as pragas. O uso de agrotóxicos faz parte da produção de culturas, não só do Brasil, mas do mundo (Stoppelli & Magalhães, 2005). A Lei Nº 7.802, DE 11 DE JULHO DE 1989 define agrotóxicos como:

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 (BRASIL, 1989, p. 11459).

No Brasil, a revolução verde se iniciou nos anos 60, época da Ditadura Militar e teve como proposta a modernização do meio agrícola, com o intuito de se obter uma maior produção alimentícia. O uso de maquinários, de transgênicos e de agrotóxicos foi inserido nas culturas brasileiras de forma que os agricultores encontraram dificuldade em se estabelecer sob essa nova metodologia de produção. Como resposta, observou-se o chamado êxodo rural, além da falta de segurança alimentar relacionada ao - cada vez mais alto - uso de agrotóxicos devido à resistência adquirida do organismo a ser erradicado (Serra et al., 2016; Stoppelli & Magalhães, 2005).

Atualmente, diferentes agrotóxicos são encontrados na indústria agrícola, os quais podem ser classificados como: De acordo com a necessidade de uso, como por exemplo, fungicidas para erradicação de fungos e herbicidas para plantas invasoras. São divididos também, de acordo com a natureza química, sendo inorgânicos, geralmente bioacumulativos, e os orgânicos. Este último, sendo natural ou sintético, é responsável pelo maior número de agrotóxicos do mercado, dividido entre carbamatos, clorofosforados, organoclorados, organofosforados, entre outros (Sanchez et al. 2003).

Também, de forma regulatória, são classificados por seu grau de periculosidade. No ano de 2019, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA] reclassificou os agrotóxicos no Brasil, a fim de se enquadrar ao Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos [Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals -

GHS] (BRASIL, 2019). Isso, segundo a Anvisa (2019), faz com que haja maior clareza na classificação toxicológica destes agrotóxicos.

1.2 Uso de agrotóxicos e suas possíveis consequências

No Brasil, até o ano de 2020, 493 agrotóxicos e componentes foram registrados (BRASIL, 2020). A descriminalização e o uso exacerbado desses, embora acredite-se resultar num impulsionamento para a agricultura, pode gerar efeitos negativos a população e a área em que são utilizados (Lopes & Albuquerque, 2018). O solo, por exemplo, recebe cargas de agrotóxicos constantemente (Queiroz, 2011), que por sua vez, pode atingir o ambiente aquático e resultar em contaminação do meio e dos organismos que nele vivem. A toxicidade desses pode ser danosa em várias esferas quando se considera a cadeia trófica, isso porque os vegetais são produtores primários e fazem parte da cadeia alimentar de consumidores primários. Esses por sua vez, são parte da alimentação de consumidores secundários, como os pássaros e assim sucessivamente até que se chegue aos grandes mamíferos (Steffen, et al., 2011).

Dentre os agrotóxicos mais comercializados na indústria brasileira, os que possuíam o composto glifosato como princípio ativo, foram os mais vendidos no país até 2019 (IBAMA, 2019). O glifosato [N-(fosfometil)glicina] é um herbicida pré-emergente de amplo espectro, caracterizado como sistêmico, não seletivo, o qual pertence ao grupo das glicinas (Galli & Montezuma, 2005; Santos et al. 2007).

Sua aplicação ocorre de forma aérea, sendo absorvido pela área foliar da planta, onde é transmitida para outros sistemas do vegetal. A ação se dá na inibição da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), a qual catalisa as reações para síntese de aminoácidos, além de outros processos enzimáticos, como produção de clorofila e de alguns hormônios essenciais. O déficit no aparato enzimático da planta gera morte celular vegetal, como resultado, há o ressecamento de sua área foliar e caulinar. Seu uso deve seguir as recomendações do rótulo, visto que a aplicação incorreta do produto pode ser ineficaz para erradicação de ervas

daninhas, assim como prejudicar o desenvolvimento da espécie vegetal de interesse (Galli & Montezuma, 2005; Machado et al. 2009).

Recentemente a ANVISA aprovou o marco regulatório com os novos critérios classificação dos agrotóxicos no Brasil. Assim, os agrotóxicos passaram a ser classificados em Categorias, sendo classificados em função da toxicidade aguda. Com isto alguns agrotóxicos passam a ser reclassificados para um grau de toxicidade menor, já que o novo critério leva em conta apenas estudos de intoxicação aguda, desconsiderando outros sintomas comuns que não levam à morte (BRASIL, 2019). Dessa forma, com a reclassificação dos agrotóxicos proposta em 2019, diversos produtos tendo o glifosato como princípio ativo foram reclassificados, tendo sua periculosidade diminuída. Estes passaram de Produtos Extremamente Tóxicos (Classe I), Produtos Medianamente Tóxico (III) ou Produtos Pouco Tóxico (IV), para a Categoria 5. Nessa categoria os agrotóxicos são classificados como IMPROVÁVEL CAUSAR DANO AGUDO (BRASIL, 2019).

Sendo o glifosato um dos agrotóxicos mais comercializado no mundo, torna-se de interesse comum estudos envolvendo o herbicida e as consequências de seu uso para o meio biótico e abiótico. No ano de 2015, International Agency for Research on Cancer (IARC) publicou uma avaliação da carcinogenicidade do glifosato em humanos, através do compilado de estudos juntamente a experimentos em laboratório com ratos. Esta direcionou o glifosato como um possível carcinógeno, além de, aparentemente, causar outros danos em estudos laboratoriais (Guyton, et al. 2015).

Seralini et al. (2018) avaliou a toxicidade do glifosato em células cultivadas. O estudo salientou que embora o glifosato traga inúmeros efeitos tóxicos sinérgicos e danos celulares, poucas pesquisas são realizadas considerando outros compostos da fórmula do herbicida comercial, como solventes. A periculosidade do glifosato, embora acredite-se ser baixa, pode causar intoxicação quando em contato com altas doses do composto, como por exemplo problemas respiratórios, arritmias e até a morte do indivíduo exposto (Zouaoui, et al., 2013).

Mas não só a saúde humana é afetada pelo herbicida. Segundo Queiroz (2011), o glifosato pode chegar ao ambiente aquático através do lixiviamento e o escoamento superficial de acordo com a capacidade de absorção do solo. Lutri, (2020) desenvolveu uma análise a fim de avaliar a presença de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA) em águas superficiais e subterrâneas. O estudo concluiu que, embora ambos os corpos d'água analisados contenham resíduos de glifosato e AMPA, as maiores concentrações encontravam-se nas águas superficiais.

Quando lixiviados para corpos hídricos, os resíduos de herbicida podem afetar o ambiente aquático e como consequência, os organismos presentes neste meio. Sikorski et al. (2019) analisou o acúmulo de herbicida na planta aquática lentilha d'água *Lemna minor* L.) por sete dias. Como resultado, os autores observaram que este acúmulo afetou a bioquímica e a morfologia da espécie vegetal. Segundo Junior & Santos (2002), peixes e invertebrados aquáticos são os organismos sensíveis ao glifosato, presente em formulações comerciais. O peixe curimbatá (*Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1837) (Langiano & Martinez, 2018) e os surubins (*Pseudoplatystoma* sp Bleeker, 1862) (Sinhorin, et al. 2014), por exemplo, quando expostos ao glifosato, demonstraram adquirir modificações morfológicas e fisiológicas. Em peixes surubins foi observada uma mortalidade de 50% dos indivíduos nas concentrações de 2,25, 4,5, 7,5 e 15 ml L⁻¹ por 96 horas.

Matozzo et al. 2020, avaliou possíveis intoxicações do herbicida glifosato em moluscos bivalves da espécie *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 utilizando de biomarcadores de exposição. Segundo os autores, o agrotóxico parece afetar parâmetros hematológicos, bem como diminuir a atividade da enzima Acetilcolinesterase (AChE) das brânquias.

Espécies de invertebrados presentes em áreas de cultivo, também são diretamente afetados pelo herbicida, como os invertebrados terrestres. Indivíduos de *Eisenia andrei* Bouché, 1972 e *E. foetida* Savigny, 1826 por exemplo, quando inseridas em solo com presença de glifosato, obtiveram uma baixa no peso corporal, principalmente os mais jovens (Dominguez et al. 2016; Correia & Moreira, 2010). Outros invertebrados diretamente afetados pela utilização do herbicida nos meios agrícolas

são os insetos polinizadores. Estes prestam seus serviços ecossistêmicos, por parte, em áreas de agricultura, estando assim, expostos à presença de agrotóxicos (Pereira et al. 2019).

1.3 A relação entre *Apis mellifera* e o herbicida glifosato

A polinização por *A. mellifera* está diretamente ligada ao sucesso de diversas culturas (Martins, et al. 2020; Silva et al. 2020; Lacerda et al. 2020; D'Ávila & Marchini, 2005). A presença destas em campos agrícolas tornam-nas organismos não-alvo do uso de agrotóxicos. Seja pelo contato com o resíduo, ou pela ingestão de pólen e néctar infectado (Fairbrother, et al. 2014). Isso pode refletir na qualidade dos produtos oferecidos por espécies do gênero *Apis*.

Berg et al. (2018) ao analisar os níveis de resíduos de glifosato no mel de 59 colméias da ilha havaiana Kaua'i (EUA), constatou que a os maiores níveis de herbicida encontravam-se no produto retirado de colméias mais próximas a centros agrícolas. Enquanto Rubio et al. (2014), ao analisar amostras de mel orgânicas e não orgânicas comerciais na área metropolitana da Filadélfia (EUA), constatou que em ambos os tipos de produto, a quantidade de herbicida encontrada estava acima do permitido para comercialização.

Thompson et al. (2014) realizou um estudo sobre a exposição de *Apis mellifera* às flores da espécie *Phacelia tanacetifolia* Benth (Facélia azul) contaminadas por glifosato. Como resultado, os autores observaram taxas significativas de resíduos do composto no néctar da colmeia. Com a exposição, a concentração de glifosato no néctar subiu para 103.3% . Souza & Rodrigues (2019), analisaram as porcentagens de glifosato em mel de 18 amostras do sul, sudeste e nordeste do Brasil. Assim, constataram que 72% das amostras estavam infectadas pelo agrotóxico, estando todas acima do limite permitido.

Alterações morfológicas e fisiológicas envolvendo a *A. mellifera* também são alvo de estudo. Faita et al. (2018), concluiu que o contato entre abelhas e o glifosato pode afetar a estrutura celular de glândulas hipofaríngeas destas. Segundo os autores, pode haver danos no retículo endoplasmático, bem como deformações estruturais e morfológicas das mitocôndrias. O sistema

carotenóide-retinóide também pode ser afetado. Este é responsável pela manutenção celular e produção de moléculas químicas que trabalham na regulação térmica destes indivíduos (Helmer et al. 2014). Abraham ~~et~~ al. (2018), ao analisar a mortalidade de indivíduos de *A. mellifera*, constatou que houve mortalidade em abelhas expostas a plantas recém pulverizadas com glifosato, com concentrações recomendadas pelo fabricante. Também, concluiu que as maiores concentrações de herbicida estavam relacionadas com a maior número de indivíduos mortos.

Estudos sugerem que a exposição ao glifosato pode causar alguns déficits ao voo das abelhas. Balbuena et al. (2015) constatou que abelhas expostas por algumas horas, a qualquer concentração de herbicida tendem a ter um maior tempo de volta para a colmeia. Os indivíduos expostos 10 mg.L⁻¹ de glifosato sucessivas vezes, obtiveram tempo maior de voo para colmeia, bem como realizaram voos indiretos. Enquanto os que foram expostos a menores concentrações (2,5 ou 5 mg.L⁻¹) demonstraram trajetórias de voos indiretos desde o início.

O forrageamento de abelhas pode ser afetado, isso porque possivelmente a exposição ao herbicida é prejudicial às habilidades cognitivas e sensoriais. Farina et al. (2019) traz evidências de que há uma forte relação entre o aumento de concentrações de glifosato e indivíduos forrageadores desorientados. Também, acredita-se que a constante contaminação do néctar pode estar relacionada a problemas relacionados a área cognitivas olfativas, uma das principais formas de comunicação entre as espécies eussociais (Motta & Landim, 1988), o que pode gerar maior despreparo de forrageadoras mais novas.

Desta forma, a problemática que envolve a ação desses químicos nas abelhas vai muito além do contato entre os agrotóxicos e os polinizadores. Embora as doses encontradas sejam pouco significativas para o organismo humano, é extremamente prejudicial para as abelhas (Kasiotisa & Machera, 2012). O declínio nas populações de abelhas gera um efeito cascata, visto que são seres fundamentais na manutenção da flora e, conseqüentemente, de incontáveis outras formas de vida (Sponslera, et al. 2019).

1.4 *Apis mellifera* e seu desenvolvimento no Brasil

A *Apis mellifera scutellata* Lepeletier 1863, objeto de investigação do presente estudo, é uma subespécie de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. Essa espécie foi descrita pelo entomólogo francês Amédée Louis Michel Lepeletier de Saint Fargeau, especialista em Hymenoptera, no ano de 1836. A Ordem Hymenoptera engloba as vespas, as abelhas e as formigas (Engel, 1999). Essa subespécie de origem africana é um organismo exótico na fauna de nosso país, e trata-se de uma abelha com ferrão, que foi introduzida no Brasil em meados de 1950. Desde esse período, começaram a ocorrer cruzamentos com outras subespécies de abelhas européias exóticas (*Apis mellifera ligustica* Spinola, 1806 - proveniente da Itália; *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879 - subespécie austríaca; e *Apis mellifera melífera* Linnaeus, 1758 da Alemanha) (Kerr, 1967 *apud* Oliveira & Cunha, 2005).

A. mellifera scutellata adaptou-se muito bem ao clima e à vegetação do Brasil. Os híbridos formados a partir dos cruzamentos com outras subespécies de abelhas mantiveram características mais relacionadas às abelhas africanas. Por conta disso, a subespécie chamada de “africanizada”, carrega algumas particularidades, como a alta eficiência em enxamear e obter sucesso em áreas consideradas inóspitas. Além disso, promove aumentos populacionais extremamente rápidos (Kerr, 1967 *apud* Oliveira & Cunha 2005).

Abelhas são organismos eussociais, que se organizam através de castas, sendo duas delas femininas (Nowak et al., 2012). Essa organização social se deu posterior à conquista da comunicação entre os indivíduos. Essa comunicação ocorre através de sinais liberados, geralmente químicos, os quais são captados e repassados. Também podendo ser através de secreções produzidas por glândulas exócrinas de operárias e rainha. Estas substâncias com o intuito de disseminar informação, são denominadas feromônios (Motta & Landim, 1988).

As operárias de *A. mellifera* têm preferência pelo forrageamento e captura de pólen em áreas de vegetação aberta. Em comparação às abelhas européias, são melhores polinizadoras, mais resistentes a doenças e também produzem mais própolis, o que é de interesse para o apicultor. No

mais, possuem comportamentos de defesa completamente distintos (Oliveira & Cunha, 2005; Jong, 1996).

O desenvolvimento de plantas com flores e a origem de novas estruturas reprodutivas (como óvulos e grãos de pólen) favoreceram o sucesso reprodutivo dos organismos polinizadores. Desta forma, esses animais desenvolveram diferentes habilidades de localização e extração do pólen, parte do processo coevolutivo juntamente com as angiospermas, resultado da seleção natural (Fonseca & Silva 2010).

As abelhas (Anthophila) realizam a maior taxa de polinização dentre todos os insetos. São, portanto, fundamentais na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas e na produção de alimentos (Souza et al., 2007). Os países em desenvolvimento - incluindo o Brasil, são responsáveis por mais de dois terços da produção agrícola mundial e cerca de 50% dessa produção depende diretamente da ação dos polinizadores (Fonseca & Silva 2010).

Não somente a quantidade de alimentos produzidos, mas também sua qualidade, está intrinsecamente ligada aos serviços de polinização. Por meio destes, observa-se uma melhora na formação dos produtos. Frutos polinizados apresentam uma menor taxa de malformação se comparados aos que não foram. Ademais, esse serviço ecossistêmico promove um aumento no teor das substâncias benéficas dos frutos, como, por exemplo, óleos essenciais, além de conferi-los um amadurecimento uniforme, evita também, prejuízos em momentos de colheita e comercialização (Nascimento, 2012; Paranhos et al., 1998).

Deste modo, são de extrema importância para o sucesso das espécies vegetais presentes em áreas de monocultura (modo de cultivo atualmente predominante na agricultura). Atualmente, as interações planta-polinizador enfrentam diversas problemáticas devido às crescentes atividades humanas, como desmatamento, fragmentação de habitat, uso desenfreado de agrotóxicos, etc. Estes fatores prejudicam diretamente o equilíbrio dos ecossistemas, agindo em vários âmbitos do meio (Petanidou & Lamborn 2005).

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como intuito observar o comportamento de indivíduos de *A. mellifera scutellata* expostos ao herbicida glifosato após a exposição de 24 horas, através de duas vias de exposição (ingestão e contato).

1.5.2. Objetivos Específicos

- Observar se há prejuízos comportamentais em abelhas expostas ao agrotóxico;
- Identificar qual via de exposição ao herbicida (ingestão e contato) são observadas mais alterações no comportamento dos indivíduos;
- Analisar qual concentração do agrotóxico mostra-se mais danosa ao comportamento dos indivíduos de *A. mellifera scutellata*.

2.Artigo

O artigo está formatado e em acordo com as normas da revista Magistra, disponível em: <https://magistraonline.ufrb.edu.br/index.php/magistra/about/submissions#onlineSubmissions>

O herbicida glifosato pode causar alterações em invertebrados polinizadores? Um estudo comportamental com abelhas operárias.

Can the glyphosate herbicide cause changes in pollinator invertebrate? A behavioral study with worker bees.

Bianca Caroline Antunes^{1*}, Letícia Gonçalves Ribeiro¹, Amanda Maria Roque¹, Kátia Maria Ferreira¹, Marcos Gonçalves Lhano²

¹ Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências da Natureza, Rodovia Lauri Simões de Barros, km 12 - SP-189, 18290-000, Buri, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: *biantunes1@gmail.com

Resumo. A exposição de abelhas a campos agrícolas com presença de agrotóxicos tem alarmado a sociedade frente às possíveis consequências desse contato. O objetivo deste estudo foi observar possíveis alterações comportamentais de abelhas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepelletier 1836), após exposição ao herbicida glifosato. Para isso, foram utilizados dois métodos de exposição (ingestão e pulverização) e duas concentrações (1 mL⁻¹ e 0,01 mL.L⁻¹), durante um período de 24 horas. Esperava-se que a maior concentração do herbicida acarretaria em alterações comportamentais dos indivíduos. Analisou-se comportamentos de contato (comunicação entre dois indivíduos), mobilidade (capacidade de alçar voo), tremores e agrupamento (comunicação entre três ou mais indivíduos). A mortalidade dos indivíduos também foi avaliada. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Sisvar®, testando-se inicialmente a normalidade dos dados (Shapiro-Wilk) e a variância (Tukey). No método de ingestão, observou-se que, na maior concentração (1 mL⁻¹), houve uma diminuição do contato entre

abelhas ($Pr > Fc$ 0,0129), diminuição da mobilidade ($Pr > Fc$ 0,0007), tremores ($Pr > Fc$ 0,0000) e significância na mortalidade ($Pr > Fc$ 0,0027). Por pulverização, na maior concentração testada, o agrupamento das abelhas diminuiu ($Pr > Fc$ 0,0179), a mobilidade aumentou ($Pr > Fc$ 0,0412) e a mortalidade foi significativa ($Pr > Fc$ 0,0022). Confirmou-se que maiores concentrações do herbicida podem afetar o comportamento de abelhas; contudo, o método de pulverização foi o que acarretou em maior mortalidade. Concluímos que o glifosato pode influenciar os é prejudicial aos padrões comportamentais de *A. mellifera scutellata* e pode estar relacionada com da mortalidade.

Palavras-chave: Agrotóxico, Etologia, Apis.

Abstract. The exposure of bees to agricultural fields with use of pesticides has alarmed society because of the possible consequences of this contact. The aim of this study was to observe possible behavioral changes in Africanized bees (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier 1836), after exposure to the herbicide glyphosate. Two methods of exposure (ingestion and spraying) and two concentrations (1 mL⁻¹ and 0.01 mL.L⁻¹) were used, in a period of 24 hours. It was expected that the higher concentration of the herbicide would result in behavioral changes in individuals. Contact behavior (communication between two individuals), mobility (ability to take flight), tremors and grouping (communication between three or more individuals) were analyzed. Individuals' mortality was counted. Statistical analyzes were performed using the Sisvar® software, with initial test of normality data (Shapiro-Wilk) followed by variance (Tukey). In the ingestion method, it was observed that, in the higher concentration (1 mL⁻¹), there was a decrease in contact between bees ($Pr > Fc$ 0.0129), decreased mobility ($Pr > Fc$ 0.0007), tremors ($Pr > Fc$ 0.0000) and significant mortality ($Pr > Fc$ 0.0027). With spraying method, at the highest concentration the grouping of bees decreased ($Pr > Fc$ 0.0179), mobility increased ($Pr > Fc$ 0.0412) and significant mortality ($Pr > Fc$ 0.0022). It was noticed that higher concentrations of the herbicide can

affect the behavior of bees; also, the spray method resulted in a higher mortality. We conclude that glyphosate can be harmful and influence the behavioral patterns of *A. mellifera scutellata*, and may be related to their mortality.

Keywords: Pesticide, Ethology, Apis.

2.1. Introdução

A chamada “Revolução Verde” trouxe ao campo novas metodologias para modernização da agricultura (maquinários, agrotóxicos, transgênicos, etc.) com fins de expansão da produtividade. Aliado a isso, atualmente está disponível uma grande diversidade de agrotóxicos no mercado agrícola, com diferentes variações em sua formulação, que são aplicados em lavouras a fim de combater a ação de fungos, insetos e outros organismos considerados prejudiciais às plantações. Os herbicidas fazem parte desse grupo de agrotóxicos e são utilizados na agricultura para o controle de plantas daninhas (Carranza et al., 2017, Junior & Santos 2002; Seralini et al., 2018, Lorenzi, 2014).

Dentre os compostos mais comercializados na agricultura brasileira, encontra-se o composto glifosato [N-(fosfonometil)glicina] (IBAMA, 2019), que é um herbicida de uso e aplicação simples, considerado eficiente eliminador de espécies vegetais invasoras a partir de pulverização aérea (Lorenzi, 2014, Galli & Montezuma 2005, Junior & Santos, 2002). Estudos demonstram que posterior a aplicação, ocorre a absorção do composto através da área cuticular da planta onde há a translocação pelo floema para os demais meristemas. O herbicida afeta o aparato enzimático do vegetal inibindo seu metabolismo e causando a morte dos tecidos. (Gustavson et al., 2018, Lorenzi, 2014, Seralini et al., 2018, Machado et al., 2009, Galli & Montezuma, 2005).

O glifosato pode afetar organismos não-alvo através de corpos hídricos com o lixiviamento e escoamento superficial, acarretando na sua presença no meio (lençóis freáticos, animais e vegetais) através da capacidade de absorção da substância pelo solo (Queiroz, 2011, Lutri et al., 2020; Sikorski, et al., 2019; Langiano & Martinez, 2018; Senhorin, et al., 2014).

Invertebrados, como os insetos polinizadores, também são considerados organismos não-alvo frente à exposição por herbicidas. Encontra-se na bibliografia estudos que mostram a existência de resíduos de glifosato produtos de abelha comerciais e não comerciais, como mel, pólen, cera (Berg et al., 2018, Rubio et al., 2014, Thompson et al., 2014, Kasiotisa & Machera, 2012).

Algumas disfunções para o organismo das abelhas em contato com agrotóxicos são encontradas na literatura. Fanta et al., (2018), apresentou que o uso de glifosato pode afetar a estrutura celular das glândulas hipofaríngeas das abelhas da espécie *A. mellifera*, causando dano prévio no retículo endoplasmático, além de deformações morfológicas e estruturais nas mitocôndrias. Helmer et al., (2014), também aponta resultados negativos para a espécie *A. mellifera* em relação ao uso inadequado do herbicida. Aplicações em doses habituais de campos agrícolas acarreta em distúrbios no sistema carotenóide-retinóide, responsáveis pela produção de moléculas químicas que atuam na regulação térmica e manutenção celular desses organismos.

Balbuena et al., (2015) analisou o comportamento de voo das abelhas ao retornarem à colmeia após exposição a soluções de melado contendo glifosato. Os resultados demonstraram um grande déficit na capacidade motora e cognitiva das abelhas em comparação ao tratamento controle. Farina et al., (2019) avaliou os efeitos da exposição crônica e aguda do glifosato sobre a espécie *A. mellifera*. Doses usuais de campo demonstraram causar um déficit cognitivo em abelhas operárias adultas, bem como aumento na sensibilidade sensorial dessas.

Um estudo promovido por Herbert et al., (2014) trabalhou a fim de compreender os efeitos do glifosato em doses de campo em *A. mellifera* analisando sensibilidade a sacarose condicionamento olfativo. Resultados demonstraram que as concentrações recomendadas para pulverização causam redução na conservação da memória de curto prazo, de aprendizado básico e associativo das abelhas.

Apis mellifera scutellata Lepeletier, 1836 é uma subespécie africana de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, inseto da Ordem Hymenoptera, polinizador e produtor de mel. A abelha africana foi introduzida no Brasil em meados de 1950, e neste período começaram a ocorrer cruzamentos acidentais com outras subespécies de abelhas européias exóticas (*Apis mellifera ligustica* Spinola, 1806; *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879; e *Apis mellifera mellifera* Linnaeus, 1758), que originou inicialmente no Brasil, uma linhagem poli-híbrida: as abelhas chamadas “africanizadas” (Kerr, 1967 *apud* Oliveira & Cunha, 2005 ; Engel, 1999).

Esta detém algumas particularidades, como a alta eficiência em enxamear e obter sucesso em áreas consideradas inóspitas. Além disso, *A. mellifera scutellata* promove aumentos populacionais extremamente rápidos (Oliveira & Cunha, 2005, Jong, 1996). A população introduzida no Brasil adaptou-se extremamente bem ao clima e à vegetação do país, ocasionando aumento na produtividade da apicultura nacional, mantendo características comportamentais e ecológicas mais relacionadas às abelhas africanas (Kent, 1988 *apud* Oliveira & Cunha).

A presença desses polinizadores é crucial para o sucesso reprodutivo de espécies vegetais existentes em áreas de produção agrícola (Laplaine et al., 2017). Contudo, o uso intensivo de agrotóxicos em lavouras têm ameaçado esses insetos, acarretando na diminuição de suas populações (Paranhos et al., 1998, Souza et al., 2013). Aliado a este problema, existem outras atividades que são prejudiciais às

interações planta(s)-polinizador(es), como desmatamento, fragmentação de habitat, poluição, entre outros (Petanidou & Lamborn, 2005).

Frente à problemática que o uso utilização indiscriminado do agrotóxico no meio ambiente pode acarretar aos polinizadores, especialmente em abelhas, nosso objetivo foi observar as alterações comportamentais de indivíduos de *Apis mellifera scutellata* após exposição ao glifosato, um dos herbicidas mais comumente utilizados na agricultura.

A hipótese H0 levantada neste estudo é a de que a ingestão ou contato de glifosato em indivíduos de *A. mellifera scutellata* afeta diretamente na fisiologia desses organismos, acarretando em mudanças comportamentais, onde as maiores concentrações do herbicida ocasionam um maior grau dessas alterações.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Período e área de estudo

O estudo foi realizado em dois momentos: ingestão (de 22 de julho à 02 de agosto de 2019) e pulverização (entre 26 de setembro e 03 de outubro de 2019), na Universidade Federal de São Carlos, *campus* Lagoa do Sino, em Buri, São Paulo (23°,35',45" S; 48°,31',53" O)

2.2.2. Coleta dos bioindicadores

Os animais utilizados como bioindicadores de exposição ao glifosato foram coletados no período da manhã visto que, apresentam uma menor atividade se comparada ao período da tarde, quando se mostram mais agitados por conta do aumento na temperatura ambiente. Foram coletadas apenas operárias campeiras adultas, diferenciadas por seus

aspectos morfológicos de rainhas e zangões, a partir de três colméias próximas umas às outras e semelhantes quanto ao número de quadros de crias.

Foi utilizado um fumigador para apicultura, para controle da atividade das abelhas. Para cada dia de teste foram capturados cerca de 30 indivíduos, com auxílio de coletor manufaturado de garrafas do tipo pet. Para que adormecessem, as abelhas foram levadas a um refrigerador a $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 30$. Os indivíduos imóveis foram dispostos em caixotes de madeira de tamanho padrão (30,0 x 30,0 x 58,0 cm) envolvidos com tela mosquiteira branca de *nylon* para a posterior realização dos testes.

2.2.3. Testes de Exposição Aguda

Para a avaliação dos efeitos da exposição do glifosato no comportamento das abelhas, foram definidos dois testes agudo, de ingestão e contato. Para isso, foram testadas três concentrações da formulação comercial de um produto contendo 792,5 ml/L de sal de Amônio de glifosato e 207,5 ml/L de outros ingredientes não fornecidos pelo fabricante. Este é comumente utilizado na área para erradicação de vegetação espontânea em plantações como a de milho e soja.

As diluições foram realizadas com as seguintes concentrações: Tratamento 1: 0,0; Tratamento 2: $0,01\text{ mL.L}^{-1}$ e Tratamento 3: 1 mL.L^{-1} do produto diluído em água destilada. As mesmas concentrações foram utilizadas nos testes de ingestão e contato. Para cada tratamento foram realizadas 10 repetições, sendo 10 animais em cada repetição, totalizando 300 abelhas analisadas em cada teste.

O teste de ingestão foi realizado de acordo com a metodologia de Miranda et al. (2003), com modificações, a qual avaliou a suscetibilidade de *A. mellífera* à amida pelitorina, um potencial composto inseticida por meio de ingestão e contato.

No teste de exposição via ingestão, um alimentador contendo 4 mL de mel, foi fixado com cola no interior de cada uma das caixas. Nos tratamentos T2 (0,01 mL.L⁻¹) e T3 (1 mL.L⁻¹) foram adicionados ao mel as respectivas concentrações do glifosato que foram testadas. O grupo controle foi alimentado apenas com mel acrescido de 1 mL de água destilada.

O teste de contato também seguiu a metodologia de Miranda et al. (2003) com modificações. Após a coleta das abelhas em estado de dormência por refrigeração, estas foram dispostas em suas respectivas caixas, onde foi realizada a aplicação do produto diluído em água (T1: 0,0; T2: 0,01 e T3: 1 mL.L⁻¹), por meio de um pulverizador manual, até atingirmos as 10 repetições em cada tratamento. No controle, realizou-se a pulverização utilizando apenas água destilada.

Em ambas as metodologias, as caixas foram dispostas em um laboratório sem luminosidade, com acesso e segurança controlados. A temperatura não foi padronizada para que os experimentos pudessem ser realizados simulando as condições climáticas encontradas em campo. Os indivíduos foram avaliados posterior à 24 horas, tempo necessário para sua alimentação.

2.2.4. Coleta dos dados/Avaliação do comportamento

O delineamento amostral adotado foi a observação de padrões comportamentais entre 300 abelhas submetidas ao glifosato (100 em cada tratamento) para comparação. A cada observação, foi anotado o tipo de comportamento e o número de indivíduos que o apresentaram. Os comportamentos avaliados no método de ingestão foram: contato (comunicação entre duplas de abelhas), mobilidade (capacidade de alçar voo) e tremores. Enquanto que no método de contato, avaliou-se o agrupamento (contato entre três ou mais indivíduos) e a mobilidade (capacidade de alçar voo).

A taxa de mortalidade de *A. mellifera scutellata* também foi avaliada em ambos os métodos e imediatamente após a realização dos experimentos os indivíduos expostos ao herbicida foram eutanasiados. Os indivíduos dos tratamentos controle foram devolvidos ao meio, em local próximo às caixas de apicultura de onde foram retirados.

2.2.5. Análise estatística

Após a coleta de dados, estes foram transferidos para duas tabelas distintas referentes a cada metodologia, ingestão e contato. Os dados de cada tabela foram processados no programa Sisvar®, onde, posteriormente foram analisados estatisticamente com um teste simples de médias que relacionava os comportamentos e o número de indivíduos em cada tratamento e método. Primeiro foi verificou-se a normalidade dos dados por meio do teste Shapiro-Wilk. Após isso, foi realizado o teste de variância Tukey, onde foi considerado significativo os resultados em que ($Pr > F_c$) demonstrou um valor menor que 0,05.

2.3. Resultados e Discussão

No teste de ingestão, os parâmetros comportamentais das abelhas que apresentaram significância frente a exposição ao herbicida ($Pr > F_c$ menor que 0,05), a partir do teste de Tukey foram: contato entre as abelhas ($Pr > F_c$ 0,0129); mobilidade ($Pr > F_c$ 0,0007) e tremores ($Pr > F_c$ 0,0000), como demonstrado na Figura 1. Além disso, ocorreu mortalidade significativa de indivíduos ($Pr > F_c$ 0,0027) (Figura 2).

Quanto ao teste de contato, os parâmetros comportamentais das abelhas que apresentaram significância quando expostas ao agrotóxico ($Pr > F_c$ 0,05), a partir do teste de Tukey foram: agrupamento ($Pr > F_c$ 0,0179) e mobilidade ($Pr > F_c$ 0,0412) (Figura 3). A

mortalidade de indivíduos também foi significativa ($P > F_c$ 0,0022), como pode ser observado na Figura 2.

Comparando-se os resultados do grupo controle com as caixas contendo concentrações do herbicida, o glifosato causou influências significativas em alguns parâmetros comportamentais que foram avaliados neste estudo: contato entre duplas de abelhas, agrupamento de três ou mais, mobilidade e tremores. Além disso, observou-se mortalidade significativa de indivíduos de *A. mellifera scutellata* em ambos os dois métodos e concentrações.

Os comportamentos desenvolvidos ao longo da história evolutiva das abelhas denotam a grande importância da sociabilidade para estes animais. Algumas espécies de abelhas sociais, como é o caso da *Apis mellifera*, apresentam comportamentos sociais superiormente complexos se comparado a outras ordens de insetos. Este padrão é denominado eussocialidade (Michener, 1974). Comportamentos de contato e agrupamento entre indivíduos, avaliados em nosso trabalho, são essenciais para a manutenção e o desenvolvimento pleno das colmeias. Com os resultados deste trabalho, esses comportamentos foram observados. O que significa que podem ter sido influenciados pela exposição ao herbicida. Tal comportamento foi mais evidente nas abelhas expostas a menor concentração testada (0,01 mL.L⁻¹).

A ocorrência desses comportamentos diminuiu conforme o aumento da concentração. O contato e o agrupamento são comportamentos de comunicação que auxiliam na troca de informações entre indivíduos, visto que são animais sensíveis a odores - como os feromônios, ao tato e a colorações distintas, assim demonstrado no estudo realizado por Hammer, (1997) que discorre sobre os efeitos neuronais de recompensa que ocorrem durante o forrageamento. Alguns feromônios são utilizados para a formação de “cachos de abelhas” durante o enxameamento; o chamado “feromônio da glândula de Nasonov” que fica situado no abdome das operárias é liberado durante esse

processo com o intuito de auxiliar no agrupamento e na orientação das abelhas (Wolff et al., 2006).

O resultado obtido pode estar relacionado ao comportamento social das abelhas e outros insetos, que possuem o hábito de comunicarem-se ao entrarem em contato com algum tipo de distúrbio - em nosso caso, o glifosato (Domingos & Gonçalves 2014). Observamos que no tratamento controle esses agrupamentos foram recorrentes, isto pode indicar que a presença de agrotóxicos, como o glifosato, pode interferir na troca de informações das abelhas, uma das atividades essenciais para a manutenção da colméia.

A mobilidade dos indivíduos foi menor nas duas concentrações do método de ingestão (1 mL.L^{-1} e $0,01 \text{ mL.L}^{-1}$). Enquanto que no método de pulverização, a diminuição da mobilidade foi observada apenas na menor concentração ($0,01 \text{ mL.L}^{-1}$). Houve um aumento da mobilidade na maior concentração (1 mL.L^{-1}), o qual ultrapassou a observada no tratamento controle deste método. Sabe-se que as abelhas possuem menor número de genes referentes a desintoxicação (Claudianos *et al.*, 2006), o que possivelmente as torna mais sensíveis a exposição a agrotóxicos.

A alta mobilidade observada na concentração de 1 mL.L^{-1} pode ter relação com o período em que os testes de pulverização foram realizados, considerando que os testes foram realizados em temperatura ambiente e que a temperatura climática média no município de Buri-SP foi maior no período do segundo métodos. Nos meses de Julho e Agosto no ano de 2019, - período em que ocorreu o teste de ingestão,- a média climática foi de 23°C , enquanto que os meses de Setembro e Outubro do mesmo ano – período em que o teste de pulverização foi realizado – deteve média climática de 25°C e 26°C respectivamente, segundo dados fornecidos pelo *Weather Spar*.

No estado de São Paulo, os meses do ano em que houveram menor número de relatos de acidentes envolvendo abelhas, foram os de Julho e Agosto. Considerando

então, a possível relação entre o aumento da temperatura e a alta atividade desta espécie (Mello *et al.*, 2003), o contato com o herbicida no período dos testes de pulverização pode ter ocasionado esta resposta dos indivíduos, isso porque, além da sensibilidade advinda do baixo número de genes de desintoxicação (Claudianos *et al.* 2006) essas também demonstram problemas quando expostas a aumento de temperaturas entre 1 ou 2°C (Tautz *et al.*, 2003, Groh *et al.*, 2004, Mello *et al.*, 2003).

O tremor foi um comportamento observado no método de ingestão, onde o tratamento com maior concentração (1 mL.L⁻¹) apresentou um número superior de indivíduos que demonstravam o comportamento em comparação ao tratamento com menor concentração (0,01 mL.L⁻¹). Encontra-se na literatura resultados relacionados a dificuldade na recuperação e integração de informações espaciais em abelhas expostas ao glifosato, bem como a dificuldade em manter-se em voo por longo período de tempo (Farina *et al.*, 2019, Balbuena *et al.*, 2015, Zgurzynski & Lushington, 2019), mas nada que elucide de forma clara o porquê deste comportamento quando em contato com o herbicida.

A exposição de indivíduo ao herbicida, pode atingir a qualidade dos serviços ecossistêmicos prestados. Efeitos subletais como a incapacidade de alçar voo e os tremores observados na metodologia de ingestão podem afetar a habilidade da abelha em realizar o forrageamento, que pode causar o insucesso da coleta, além de baixo desempenho na colmeia (Freitas & Pinheiros, 2010, Aliouane *et al.*, 2009, Thompson *et al.*, 2014).

A observação dos indivíduos neste presente estudo demonstrou, de forma simultânea, tremores, problemas ao alçar voo e a morte de indivíduo exposto ao herbicida. Abraham *et al.*, (2018), sugere que a *A. mellifera* quando exposta ao glifosato apresenta taxas de morte significativas na concentração recomendada pelo fabricante,

principalmente por metodologia de borrifamento, condizente ao modo de aplicação em campos agrícolas.

Nossos dados demonstram uma maior mortalidade nas concentrações de 1 mL, tanto no método de ingestão quanto de contato (Figura 2). A mortalidade das abelhas entre as duas metodologias foi maior quando expostas ao glifosato através de pulverização. Entretanto, a caixa controle (T1: 0,0) também demonstrou mortalidade significativa nesta metodologia. Isso pode estar relacionado aos meses em que esses testes foram realizados. Como já dito, houve um aumento na temperatura climática entre os métodos. Acreditamos que essa variação da temperatura pode ter afetado diretamente a fisiologia das abelhas.

De acordo com Domingos & Gonçalves (2014), a *A. mellifera* possui a capacidade de controlar o clima da colméia através de mecanismos secundários que promovem a termorregulação, como o hábito de aquecer ou resfriar a colmeia por meio do agrupamento, através do bater de asas (Esch & Goller, 1991, Heinrich, 1979).

Entretanto, com a ação do glifosato em sua fisiologia, essa capacidade pode ter sido afetada de forma negativa, o que acarretou na resposta ineficaz desses mecanismos, os impossibilitando de regular a alta temperatura do meio. Helmer et al., (2014), relatou problemáticas no aparato responsável pela regulação térmica da *A. mellifera* quando exposta durante dez dias ao herbicida glifosato, a valores menores que 1% da dose letal (DL50) correspondente as abelhas (1,25 mL.L⁻⁶, 2,50 mL.L⁻⁶ e 5,0 mL.L⁻⁶)

Com um déficit dos mecanismos responsáveis pela termorregulação, tem-se como resultado desencadeamento de efeitos nocivos para os indivíduos, como deformações corporais, baixo desempenho das operárias e bater irregular das asas (Domingos & Gonçalves, 2014). Também consta na bibliografia, avarias cerebrais, desenvolvimento anômalo e morte do organismo com o aumento de 1 ou 2°C, independente da fração de tempo (Himmer, 1927, Tautz et al., 2003, Groh et al., 2004).

Considerando a necessidade do uso motor do organismo para realização dessa atividade, a exposição ao agrotóxico pode ter reduzido a capacidade de respostas a estímulo externo (Balbuena et al., 2015, Farina et al., 2019), o que pode ter ocasionado a morte destes indivíduos.

Ainda que estudos fora de situações de campo revelem diversas problemáticas envolvendo a exposição de abelhas frente ao herbicida, carece-se de mais informações elucidadas quanto aos impactos neurofisiológicos e comportamentais sofridos pela *A. mellifera scutellata* quando expostos ao glifosato.

2.4. Conclusão

Verificou-se que a influência do glifosato por ingestão e contato resultou em, além de problemas comportamentais como tremores e baixa mobilidade, também uma mortalidade significativa de indivíduos expostos. Também, em maiores concentrações foi observado um maior grau dessas problemáticas, o que corrobora com a hipótese levantada. A pulverização do glifosato sobre as abelhas em maiores concentrações demonstrou causar uma maior mortalidade dos indivíduos. Assim, concluímos que o glifosato ocasionou efeitos nas respostas comportamentais dos indivíduos de *A. mellifera scutellata*.

2.5. Referências Bibliográficas

Abraham, J. et al. (2018). Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. *Entomologia experimentalis et applicata*, 166 (8), 695–702.

Aliouane, Y. et al. (2009). Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. *Environment toxicology chemical*, 28 (1), 113- 122.

Balbuena, M. S. et al. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *The journal of experimental biology*, 218 (2799-2808).

Berg, C. J. et al. (2018). Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees. *Plos one*, 13 (7).

BRASIL. Ministério da Saúde. Acidentes por animais peçonhentos: Acidentes por abelhas segundo o mês 2000 a 2018. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/a/acidentes-por-animais-peconhentos-o-que-fazer-e-como-evitar>> Acesso Maio 2021.

Carranza, C. S. et al. (2017). Assessment of growth of *Aspergillus* spp. from agricultural soils in the presence of glyphosate. *Revista argentina de microbiologia*, 49 (384-393).

Claudianos, C. et al. (2006). A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect molecular biology*, 15 (5), 615-636.

Domingos, H. & Gonçalves, L. (2014). Termorregulação de abelhas com ênfase em *Apis mellifera*. *Acta veterinaria brasílica*, 8 (3), 151-154.

Engel, M. S. (1999). The Taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *Journal of Hymenoptera research*, 8 (2), 165-196.

Esch, H.; Goller, F. (1991). Neural control of fibrillar muscles in bees during shivering and flight. *The journal of experimental biology*, 159 (419–431).

Faita, M. R. et al. (2018). Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere*, 211 (566-572).

Farina W. M. et. al. (2019). Effects of the herbicide glyphosate on honey bee sensory and cognitive abilities: Individual impairments with implications for the hive. *Insects*, 10 (354).

Freitas, B. M. & Pinheiro, J. N. (2010). Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros. *Oecologia Australis*, 14(1), 282-298.

- Galli, A. J. B. & Montezuma, M. C. (2005). *Glifosato: Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura* (66p.). Santo André: Escola superior de agricultura-ESALQ.
- Groh, C. et al. (2004). Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (4268–4273).
- Gustavson, P. C. et al. (2018). Imaging of glyphosate uptake and identification of early microscopic markers in leaves of C3 and C4 glyphosate-resistant and -susceptible species. *Ecotoxicology and environmental safety*, 163 (502-513).
- Hammer, M. (1997) The neural basis of associative reward learning in honeybees. *Trends in neurosciences*, 20 (6), 245-251.
- Heinrich, B. (1979). Thermoregulation of african and European honeybees during foraging, attack, and hive exits and returns. *Journal of experimental biology*, 80 (217–229).
- Helmer, S. H. et al. (2014). Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental science and pollution research*, 22 (11), 8010–8021.
- Herbert, L. T. et al. (2014). Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *The journal of experimental biology*, 19 (217), 3457-3464.
- Himmer, A. (1927). Ein beitrag zur enntnis des wärmehaushalts im nestbau sozialer hautflügler. *Zeitschrift fur vergleichende physiologic*, 5 (375-389).

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. Agrotóxicos, 2019. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao/agrotoxicos#boletinsanuais>> Acesso: Março 2021.

Jong, D. (1996). Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. *Bee world*, 77 (2), 67-70.

Junior, O. P. A. & Santos, T. C. R. (2002). Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química nova*, 25 (4).

Kasiotisa, K. M. & Machera, K. (2012). Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. *Science of the total environment*, 485 (633-642).

Kent, R. B. (1988). Introduction and diffusion of the african honeybee in South America. *Yearbook of the association of pacific coast geographers*, 50 (21-43).

Kerr, W. E. (1967). The history of introduction of African bees to Brazil. *South African bee journal*, 39 (2), 3-5.

Langiano, V. C. & Martinez, C. B. R. (2018). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Bioquímica Comparada e Fisiologia Parte C: Toxicologia e Farmacologia*, 147 (2), 222-231.

Laplane, M. F. et al. (2017). *Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global* (124p.). Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE).

Lorenzi, H. (2014). Manual de identificação e controle de plantas daninhas. *Plantarum*, 7 (384).

Lutri, V. F. et al. (2020). Hydrogeological features affecting spatial distribution of glyphosate and AMPA in groundwater and surface water in an agroecosystem. *Science of the total environment*, 711 (137-557).

Machado, A. F. et al. (2009). Absorção, translocação e exsudação radicular de glifosato em clones de eucalipto. *Revista planta daninha*, 29 (03).

Mello, M. H. S. H. et al. (2003). Abelhas africanizadas em área metropolitana do Brasil: abrigos e influências climáticas. *Revista de Saúde Pública*, 37(2), 237-241.

Michener, C. D. (1974). The social behavior of bees: A comparative study. *Annual review of entomology*, 14 (1), 299-342.

Miranda, J. E. et al. (2003). Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) to pellitorine, na amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Apidologie*, 34 (409-415).

Oliveira, M. L. & Cunha, J. A. (2005). Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepelletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica? *Acta amazônica*, 389 (35), 389-394.

Paranhos, B. A. J. et al. (1998). Densidade de colmeias de abelhas africanizadas, *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae), para polinizar maçã. *Scientia agrícola*, 55 (3).

Petanidou, T. & Lamborn, E. (2005) A land for flowers and bees: studying pollination ecology in Mediterranean communities. *Plant biosystems*, 139(3), 279-294.

Queiroz, G. M. P. (2011). Glyphosate transport in runoff and leaching waters in agricultural soil. *Química nova*, 34 (2), 190-195.

Rubio, F. et al. (2014). Survey of glyphosate residues in honey, corn and soy products. *Journal of environmental & analytical toxicology*, 5 (1), 1-8.

Seralini, G. E. et al. (2018). Toxicity of formulants and heavy in glyphosate-based herbicides and others pesticides. *Toxicology reports*, 5 (156-163).

Sikorski, L. et al. (2019). The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. *Aquatic toxicology*, 290 (70-80).

Sinhorin, V. D. G, et al. (2014). Effects of the acute exposition to glyphosate-based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma* sp). *Ecotoxicology and environmental safety*, 106 (181–187).

Souza, J. R. L. et. al. (2013). Ação de pesticidas sobre abelhas: avaliação do risco de contaminação de méis. *ACTA tecnológica*, 08 (01), 28-36.

Tautz, J. et al. (2003). Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (12), 7343– 7347.

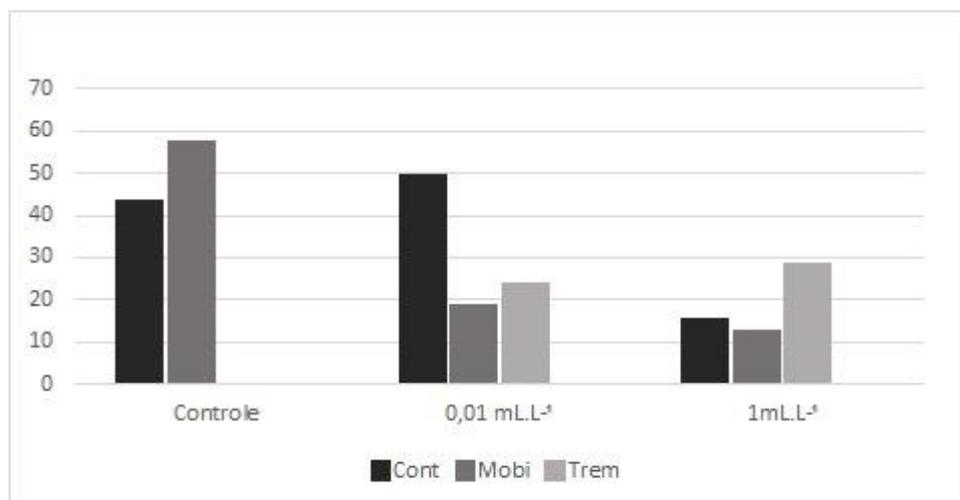
Thompson, H. M. et al. (2014). Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an example. *Integrated environmental assessment and management*, 10 (3), 463-470.

Wolff, L. F. et. al. (2006). *Povoamento de Colmeias* (circular técnica, 21ed.). Teresina: EMBRAPA.

Weather Spark. Clima da cidade de Buri-SP durante o ano. Disponível em: <<https://pt.weatherspark.com/y/30060/Clima-caracter%C3%ADstico-em-Buri-Brasil-durante-o-ano>> Acesso: Maio 2021.

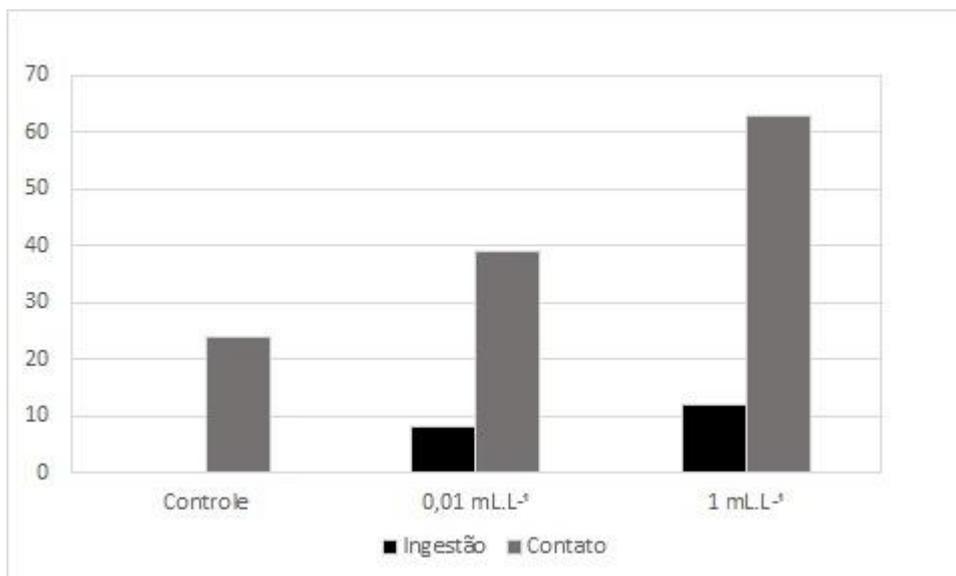
Zgurzynski, M.; Lushington, G. H. (2019). Glyphosate impact on *Apis mellifera* navigation: A combined behavioral and cheminformatics study. *EC Pharmacology and toxicology*, 7 (8), 806-824.

Figura 1. Comparação das médias dos comportamentos observados em indivíduos de *A. m. scutellata* na metodologia de ingestão, realizados de 22 de julho a 02 de agosto de 2019, em Buri/SP. Legenda: Em preto (Cont) comportamento de contato, cinza escuro comportamento de mobilidade (Mobi), e tremores (Trem) em cinza claro.



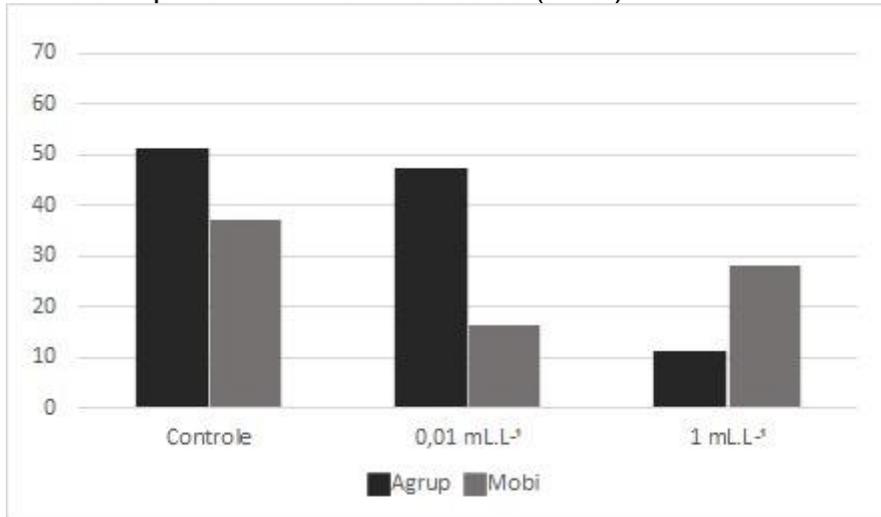
Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 2. Média da mortalidade de indivíduos expostos ao glifosato via ingestão e contato, realizados de 22 de julho a 02 de agosto de 2019 e 26 de setembro a 03 de outubro de 2019. Buri-SP. Legenda: Em preto (Ingestão), os valores correspondentes a mortalidade no método via ingestão. Em cinza (Contato), os valores referentes a média de mortalidade do método de contato por pulverização.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 3. Comparação das médias dos comportamentos observados em *A. m. scutellata* tidos como significativos na metodologia de pulverização, realizados de 26 de setembro a 03 de outubro de 2019, em Buri/SP. Legenda: Em preto (Agrup) comportamento de agrupamento, cinza comportamento de mobilidade (Mobi).



Fonte: Dados da Pesquisa.

Pode-se concluir que o glifosato em todas as concentrações foi deficitário aos indivíduos de *A. m. scutellata*, assim como em ambas as formas de exposição, houve problemáticas no comportamento da espécie, bem como morte dos indivíduos. Assim, evidencia-se a importância do cuidado na aplicação deste herbicida, bem como a necessidade de estudos referentes a temática.

4. Referências Bibliográficas

Abraham, J. et al. (2018). Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. *Entomologia experimentalis et applicata*, 1 (8).

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Publicada reclassificação toxicológica de agrotóxicos. 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/publicada-reclassificacao-toxicologica-de-agrotoxicos#:~:text=Reclassifica%C3%A7%C3%A3o%20ocorre%20em%20raz%C3%A3o%20do,de%20baix%C3%ADssimo%20potencial%20de%20dano.>> Acesso em: Fev. 2021.

Balbuena, M. S. et al. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *The journal of experimental biology*, 218 (17), 2799-2808.

Berg, C. J. et al. (2018). Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees. *Plos one*, 13 (7), 1-18.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Registros concedidos em 2005-2020: **Resumo de registro de agrotóxicos, componentes e afins**. Brasília DF, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>> Acesso: Março, 2021.

BRASIL, ATO Nº 58, DE 27 DE AGOSTO DE 2019. Resolve dar publicidade às alterações das classificações toxicológicas dos produtos formulados agrotóxicos e afins. Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/ato-n-58-de-27-de-agosto-de-2019-213474289>>Acesso: Fevereiro, 2021.

BRASIL. Lei Nº 7.802, de 11 de Julho de 1989. Regulamento Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p 4, jul. 1989.

- Correia, F.V. & Moreira, J. C. (2010). Effects of glyphosate and 2,4-D on earthworms (*Eisenia foetida*) in laboratory tests. *Environment contamination and toxicology*, 85(3), 264-268 .
- D'Ávila, M. Marchini, L. C. (2005). Polinização realizada por abelhas em culturas de importância econômica no Brasil. *Boletim de indústria animal*, 62(1), 79-90.
- Dominguez, A. et al. (2016). Toxicity of AMPA to the earthworm *Eisenia andrei* Bouché, 1972 in tropical artificial soil. *Nature*, 6 (19731).
- Engel, M. S. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; Apis). *Journal of Hymenoptera Research*, 8(2), 165-196.
- Fairbrother, A. et al. (2014). Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental toxicology and chemistry*, 33 (719-731).
- Faita, M. R. et al. (2018). Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere*, 211, (566-572).
- Farina, W. M. et al. (2019). Effects of the herbicide glyphosate on honey bee sensory and cognitive abilities: Individual impairments with implications for the hive. *Insects*, 10(10), 354.
- Fonseca, I. V. L. & Silva, N. P. (2010). As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. *Biota Neotropica*, 10(4), 60-62.
- Galli, A. J. B. & Montezuma, M. C. (2005). *Glifosato: Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura* (66p.). Santo André: Escola superior de agricultura-ESALQ.
- Guyton, K. Z. et al. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The lancet oncology*, 16(5), 490-491.
- Helmer, S. H. et al. (2014). Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental science and pollution research*, 22 (11), 8010-8021.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2015) *Monographs: Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides* 112. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-monographs-volume-112-evaluation-of-five-organophosphate-insecticides-and-herbicides/> Acesso: Outubro, 2020.
- INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. Agrotóxicos, 2019. Disponível em:** <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao/agrotoxicos#boletinsanuais>> Acesso: Março 2021.
- Jong, D. (1996). Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. *Bee World*, 77(2), 67-70.
- Junior, O. P. A. & Santos, T. C. R. (2002) Glifosato: Propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química nova*, 25(4), 589-593.

- Kasiotisa, K. M. & Machera, K. (2012). Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. *Science of the total environment*, 485-486 (633-642).
- Kerr, W. E. (1967). The history of introduction of African bees to Brazil. *South African bee journal*, 39(2), 3-5.
- Lacerda, D. C. O. et al. (2020). Biodiversidade de polinizadores em floração de cebola (*Allium cepa* L.). *Cadernos de agroecologia*, 15 (2).
- Langiano, V. C. & Martinez, C. B. R. (2018). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, 147(2), 222-231.
- Lopes, C. V. A. & Albuquerque, G. S. C. (2018). Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde Debate*, 24 (117), 518-534.
- Lutri, V. F. et al. (2020). Hydrogeological features affecting spatial distribution of glyphosate and AMPA in groundwater and surface water in an agroecosystem. *Science of the total environment*, 711 (137-557).
- Machado, A. F. et al. (2009). Absorção, translocação e exsudação radicular de glifosato em clones de eucalipto. *Revista planta daninha*, 27 (3), 549-554.
- Martins, A. M. L. B. et al. (2020). A importância das abelhas para polinização do cajueiro na localidade Riachão, Itainópolis- PI. *Cadernos de agroecologia*, 15(2).
- Matozzo, V. et al. (2020). The effects of glyphosate and its commercial formulations to marine invertebrates: A review. *Journal of marine science and engineering*, 8(399).
- Motta, M. H. V. B. & Landim, C. C. (1988). Ocorrência e morfometria de glândulas tegumentares abdominais em *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Revista brasileira de zoologia*, 5(1), 119-154.
- Nascimento, W. M. (2012). Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. *Horticultura brasileira*, 30(3), 494-498.
- Nowak, M. A. et al. (2012). The evolution of eusociality. *Nature*, 466 (7310), 1057-1062.
- Oliveira, M. L. & Cunha, J. A. (2005). Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepelletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica? *Acta Amazonica*, 389 (35), 389-394.
- Paranhos, B. A. J et al. (1998). Densidade de colmeias de abelhas africanizadas, *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae), para polinizar maçã. *Scientia Agricola*, 55(3), 355-359.
- Pereira, L. H. et al. (2019). Effects of the use of pesticides on bees: A systematic review on scientific databases. *Brazilian journal of development*, 5 (12), 32821-32833.

- Petanidou, T. & Lamborn, E. (2005) A land for flowers and bees: studying pollination ecology in Mediterranean communities. *Plant biosystems*, 139(3), 279-294.
- Queiroz, G. M. P. (2011). Glyphosate transport in runoff and leaching waters in agricultural soil. *Química nova*, 34 (2), 190-195.
- Rubio, F. et al. (2014). Survey of glyphosate residues in honey, corn and soy products. *Journal of environmental & analytical toxicology*, 5 (1), 1-8.
- Sanches, S. M. et al. (2003). Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 13, (53-58).
- Santos, V. M. R. (2007). Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. *Química nova*, 30(1).
- Seralini, G. E. et al. (2018). Toxicity of formulants and heavy in glyphosate-based herbicides and others pesticides. *Toxicology reports*, 5(156-163).
- Serra, L. S. et al. (2016). Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. *Revista científica do centro de estudos em desenvolvimento sustentável da UNDB*, 4(1).
- Sikorski, L. et al. (2019). The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. *Aquatic toxicology*, 290 (70-80).
- Silva, M. F. et al. (2020). Abelhas polinizadoras e produção de frutos e sementes em café convencional. *Brazilian journal of animal and environment research*, 3(4), 4227-4237.
- Sinhorin, V. D. G, et al. (2014). Effects of the acute exposition to glyphosate-based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma* sp). *Ecotoxicology and environmental safety*, 106 (181–187).
- Souza, A. P. F. & Rodrigues, N. R. (2019). Contaminação de mel brasileiro por herbicida glifosato. *Revista eletrônica SIMTEC*, 7(019146).
- Souza, L. D. et al. (2007). As Abelhas Como Agentes Polinizadores. *Revista eletrônica de veterinária*, 8(3), 1-7.
- Sponsler, D. B. et al. (2019). Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the total environment*, 662 (1012-1027).
- Steffen, G. P. K. et al. (2011). Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos. *Revista tecno-lógica*, 15(1), 15-21.
- Stoppelli, I. M. B. S. & Magalhães, C. P. (2005). Saúde e segurança alimentar: a questão dos agrotóxicos. *Ciência e saúde coletiva*, 10(91-100).
- Thompson, H. M. et al. (2014). Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an example. *Integrated environmental assessment and management*, 10(3), 463-470.

Zouaoui, K. et al. (2013). Determinação de glifosato e AMPA no sangue e na urina de seres humanos: cerca de 13 casos de intoxicação aguda. *Forensi science international*, 223(20).