

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS  
CAMPUS DE DRACENA**

**Nathalia de Souza Gomes**

**SOBREVIDA DE ABELHAS MELÍFERAS INTOXICADAS  
COM PIRACLOSTROBINA E ALIMENTADAS COM  
XAROPE ENRIQUECIDO COM PRÓPOLIS VERDE**

Dracena

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS  
CAMPUS DE DRACENA**

**Nathalia de Souza Gomes**

**SOBREVIDA DE ABELHAS MELÍFERAS INTOXICADAS  
COM PIRACLOSTROBINA E ALIMENTADAS COM  
XAROPE ENRIQUECIDO COM PRÓPOLIS VERDE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Campus  
de Dracena como parte das exigências  
para conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Nicodemo

Dracena  
2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JULIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Dracena



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JULIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS  
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

#### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **Sobrevida de abelhas melíferas intoxicadas com piraclostrobina e alimentadas com xarope enriquecido com própolis verde**

Modalidade: Trabalho de pesquisa.

Autor: Nathalia de Souza Gomes

Orientador: Prof. Dr. Daniel Nicodemo

Número de Créditos: 12

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 06/01/2022

Daniel Nicodemo

Ricardo Velludo-Gomes de Soutello

Cássia Regina de Avelar Gomes

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

Nathalia de Souza Gomes, nascida em 08 de fevereiro de 2000, na cidade de Dracena-SP. Filha de João Valentino da Silva Gomes e Cristiane Priscila Papille de Souza Gomes. Ingressou no curso de graduação em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT/UNESP), campus de Dracena, em fevereiro de 2018. Durante a graduação, participou de grupos de estudos, eventos científicos, cursos, entre outros. Em 2021, ingressou no grupo de estudos NOS vindo a se interessar pelos estudos em apicultura, os quais originaram este trabalho de conclusão de curso.

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai, João Valentino da Silva Gomes e minha mãe, Cristiane Priscila Papille de Souza Gomes, que me educaram e me possibilitaram mais essa conquista, exemplos de vida fundamentais para a minha vida pessoal e profissional.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pelo dom da vida, pela saúde e pela oportunidade de alcançar esta conquista.

Aos meus pais, por todo esforço e dedicação para que a realização deste sonho fosse possível.

A minha irmã, Lívia, pelo amor, companheirismo e amizade.

Ao meu namorado, William, pelo amor, apoio e suporte incondicional.

Ao meu orientador Prof<sup>a</sup> Dr Daniel Nicodemo, pelos conhecimentos compartilhados, dedicação e entusiasmo ao ensinar.

À República Eternament, pelas amizades, ensinamentos, acolhimento e carinho.

A todos amigos e familiares, pessoas fundamentais na minha vida, que contribuíram direta e indiretamente para a minha formação.

## RESUMO

Um dos fatores responsáveis pela queda na população das abelhas é o uso dos agrotóxicos, como os fungicidas. A piraclostrobina é um dos fungicidas que pode provocar danos à saúde das abelhas. A própolis verde, um produto gerado a partir das resinas de *Baccharis dracunculifolia*, possui características que podem auxiliar na desintoxicação das abelhas contaminadas com agrotóxicos, e consequentemente diminuir o impacto causado pela exposição a esses agentes estressores. Portanto, este estudo objetivou avaliar o efeito na sobrevivência de abelhas melíferas alimentadas com própolis verde e intoxicadas com o fungicida piraclostrobina. Foram utilizadas três colônias de abelhas *Apis mellifera*, que foram utilizadas para coletar abelhas recém-nascidas. Em gaiolas, foram fornecidas às abelhas dietas com diferentes doses de piraclostrobina para determinação da DL<sub>50</sub> por ingestão em 48 horas e avaliação do consumo das mesmas. Após a determinação da DL<sub>50</sub>, foi realizada a avaliação da sobrevivência das abelhas, com três concentrações diferentes de própolis verde (10, 20 e 50 µl/10 abelhas). Os parâmetros foram coletados, a DL<sub>50</sub> de piraclostrobina calculada e os resultados obtidos submetidos a análise de variância e ao teste t, Tukey e Log-Rank. Foi obtido uma DL<sub>50</sub> de piraclostrobina de 60,8 µg/abelha. Não foram obtidas diferenças significativas para o consumo das dietas com diferentes concentrações de própolis verde e piraclostrobina. Na avaliação de sobrevivência, as abelhas que receberam alimento contendo o fungicida piraclostrobina sobreviveram por três dias. Quando o alimento foi acrescido de própolis, a sobrevivência média aumentou em um dia. A própolis verde pode ser um suplemento utilizado pelos apicultores para minimizar os danos causados à saúde das abelhas, pois sua ingestão contribui para aumento da sobrevivência destes insetos, quando intoxicados com o fungicida piraclostrobina. Sugere-se a realização de estudos específicos para elucidação dos mecanismos de desintoxicação das abelhas, a partir do fornecimento de dietas enriquecidas com própolis verde.

**Palavras-chave:** Agrotóxico. Apicultura. *Baccharis dracunculifolia*. Sobrevivência.

## ABSTRACT

One of the factors responsible for the drop in the population of bees is the use of pesticides, such as fungicides. Pyraclostrobin is one of the fungicides that can damage the health of bees. Green propolis, a product generated from *Baccharis dracunculifolia* resins, has characteristics that can help detoxify bees contaminated with pesticides, and consequently reduce the impact caused by exposure to these stressors. Therefore, this study aimed to evaluate the effect on the survival of honey bees fed with green propolis and intoxicated with the fungicide pyraclostrobin. Three colonies of *Apis mellifera* bee were used, which were used to collect newborn bees. In cages, the bees were fed diets with different doses of pyraclostrobin to determine the LD50 per ingestion in 48 hours and to evaluate the consumption of the diets. After determining the LD50, the survival of bees was evaluated with three different concentrations of green propolis (10, 20, and 50  $\mu\text{l}/10$  bees). The parameters were collected, the LD50 of pyraclostrobin was calculated and the results were submitted to analysis of variance and the t, Tukey, and Log-Rank test. A pyraclostrobin LD50 of 60.8 g/bee was obtained. No significant differences were obtained for the consumption of diets with different concentrations of green propolis and pyraclostrobin. In the survival assessment, the bees that received food containing the fungicide pyraclostrobin survived for three days. When the food was added with propolis, the average survival increased by one day. Green propolis can be a supplement used by beekeepers to minimize damage to the health of bees, as its ingestion contributes to increasing the survival of these insects when intoxicated with the fungicide pyraclostrobin. It is suggested to carry out specific studies to elucidate the detoxification mechanisms of bees, from the supply of diets enriched with green propolis.

**Keywords:** Pesticide. Beekeeping. *Baccharis dracunculifolia*. Survival



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos .....	13
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 Histórico, importância e aspectos morfológicos das abelhas melíferas ..	14
3.1.1 A apicultura no Brasil.....	16
3.2 Impacto dos agrotóxicos em abelhas .....	18
3.2.1 O fungicida piraclostrobina e as abelhas melíferas .....	20
3.3 A própolis .....	21
3.3.1 A própolis verde: produto nacional.....	22
3.3.2. O uso de própolis na dieta de abelhas melíferas .....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1. Local do Experimento.....	24
4.2 Reagentes.....	24
4.3 Abelhas, dietas e alimentação .....	24
4.4 Determinação da DL50 por ingestão da piraclostrobina .....	27
4.5 Consumo das dietas.....	27
4.4 Teste de sobrevivência das abelhas .....	27
4.5 Análises estatísticas .....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
6 CONCLUSÃO.....	33
7 REFERÊNCIAS .....	34

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos fatores responsáveis pela queda na população das abelhas é o uso dos agrotóxicos, pois, ao serem aplicados no campo, com intuito de controlar pragas, estes produtos podem comprometer a saúde das abelhas, podendo dizimar colmeias e até apiários (ZALUSKI, 2017).

A utilização excessiva e inadequada de agrotóxicos pode gerar um ou mais fatores estressantes aos insetos não alvo, que podem implicar em alta mortalidade para as abelhas, principalmente, quando são utilizados inseticidas (SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014). Porém, a literatura relata ainda que outras classes de agrotóxicos, como os herbicidas (FAITA *et al.*, 2018) e os fungicidas (NICODEMO *et al.*, 2020; ZALUSKI *et al.*, 2020) podem agravar a saúde de colmeias tão quanto os inseticidas.

Muitos fungicidas comprometem a função mitocondrial das células, causando sérios danos na síntese de ATP (ARNOULT *et al.*, 2009; NICODEMO *et al.* 2020), além de causarem defeitos morfogênicos, redução na emergência de rainhas, diminuição da imunocompetência e aumento da mortalidade (DEGRANDI-HOFFMAN *et al.*, 2013), além de alterações no desenvolvimento de glândulas mandibulares e hipofaríngeas (ZALUSKI *et al.*, 2020).

Dentre os fungicidas agrícolas, destaca-se a piraclostrobina, um produto de ação sistêmica, da classe química das estrobilurinas, do Grupo 11 de resistência ao FRAC (Comitê de Ação de Resistência à Fungicidas), com o modo de ação bioquímica específico baseado na inibição da respiração mitocondrial (KANUNGO; JOSHI, 2014). A piraclostrobina possui um amplo espectro contra as doenças consideradas economicamente mais importantes das culturas agrícolas, ocasionadas por fungos das classes de Ascomycetos, Basidiomycetos e Deuteromycetos, e sua utilização é diversificada para cultivos hortícolas, ornamentais, anuais e perenes (BASF. THE CHEMICAL COMPANY, 2017).

A exposição das abelhas aos agrotóxicos, incluso a piraclostrobina, ocorre nas atividades de forrageamento (coleta de néctar, água e/ou pólen). Ao coletarem alimento nas flores, frequentemente as abelhas realizam o serviço de polinização, atividade de suma importância para a manutenção dos ecossistemas (NICODEMO *et al.*, 2020). Estima-se que 80% das angiospermas, dependem de algum nível de polinizador, e, cerca de dois terços dos alimentos

obtidos são em virtude da polinização por abelhas, principalmente da espécie *Apis mellifera* L. (MCGREGOR, 1976).

Mesmo que a exposição da abelha não seja de forma direta com o agrotóxico, o fungicida pode estar presente em subdoses no pólen coletado, pois essas moléculas possuem translocação dos tecidos vegetais para estruturas florais (PETTIS *et al.*, 2013). Essa exposição pode gerar sérios problemas ao enxame, como a inibição da respiração mitocondrial, responsável pelo o fornecimento energético para as funções vitais do inseto (NICODEMO *et al.*, 2020).

Portanto, alternativas que diminuam esses efeitos estressantes da piraclostrobina nas abelhas são de elevada relevância. A suplementação da dieta pode ser, dentre outras, uma das formas de mitigar esse impacto (BRANCHICCELA *et al.*, 2021). Trabalhos pioneiros com a suplementação de própolis para as abelhas mostram uma possível solução para essa problemática (NIU *et al.*, 2011; SIMONE *et al.*, 2009; SOUZA, 2015).

A própolis é um produto elaborado pelas abelhas para a proteção da colmeia, que apresenta propriedades antibacteriana, antiviral, antitumoral, antifúngica, antioxidante e imunomoduladora (SFORCIN, 2016). Dentre os principais tipos de própolis, destaca-se a própolis verde, sendo uma das mais valiosas e é exclusiva do Brasil. Essa própolis, oriunda da coleta de resina de plantas de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), apresenta grande teores significativos de Artepellin C e Bacharina, que apresentam diversas atividades biológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Considerando que as abelhas estão presentes em ecossistemas agrícolas, nos quais são utilizados agrotóxicos, inclusive fungicidas, e que estes produtos podem trazer algum dano à saúde desses insetos não alvo, a suplementação da dieta das abelhas com própolis pode ser benéfica para a saúde das abelhas, tornando-as mais resistentes quando contaminadas com doses subletais de fungicidas como a piraclostrobina.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo do presente estudo é avaliar o efeito do consumo de própolis na sobrevivência de abelhas melíferas intoxicadas com o fungicida piraclostrobina

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a DL50 por ingestão para abelhas melíferas, para o fungicida piraclostrobina;
- Determinar qual é o nível máximo de adição de extrato de própolis no xarope das abelhas, baseando-se no consumo e mortalidade das abelhas;
- Avaliar se a inclusão de própolis contribui para o aumento da longevidade de abelhas intoxicadas por meio de alimento energético contaminado.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Histórico, importância e aspectos morfológicos das abelhas melíferas

As abelhas *Apis mellifera* L., 1758, também conhecidas como abelhas melíferas europeias ou abelhas Europa, são insetos eusociais, holometábolos, pertencentes à ordem Hymenoptera e à família Apidae (SLESSOR *et al*, 2003; GUPTA, 2014). Estes insetos têm a capacidade de viver em sociedades altamente organizadas, caracterizadas por divisões em castas (rainha, zangões e operárias) (ZALUSKI *et al.*, 2019) (Figura 1).

**Figura 1.** Rainhas, operárias e zangões de uma colmeia de abelhas *Apis mellifera*



Fonte: Retirado de Pereira *et al.* (2003)

([https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio\\_sisal/arvore/CONT000fckg3dhb02wx5eo0a2ndxytqx96jy.html/](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_sisal/arvore/CONT000fckg3dhb02wx5eo0a2ndxytqx96jy.html/))

A abelha melífera europeia é uma espécie altamente adaptável, com uma distribuição nativa entre as regiões do Sul da Escandinávia, Ásia Central e África (RUTTNER, 1988). Entretanto, desde 1600, a área de distribuição deste inseto se expandiu a nível cosmopolita, presente em todos os cantos do globo terrestre (CRANE, 1999). Para enfatizar tal importância, Crane (1975) expõe sob sua óptica que, como o cachorro, a abelha acompanhou o homem na maioria das principais migrações, e os principais colonizadores da época difundiram as colmeias por todo mundo.

Cabe ressaltar, as abelhas foram de suma importância na antiguidade, pois produziam o mel, que era o único adoçante disponível para as primeiras civilizações antes do refinamento da cana de açúcar (VOORHIES *et al.*, 1933). Contudo, é possível observar na literatura relatos mais antigos de domesticação das abelhas.

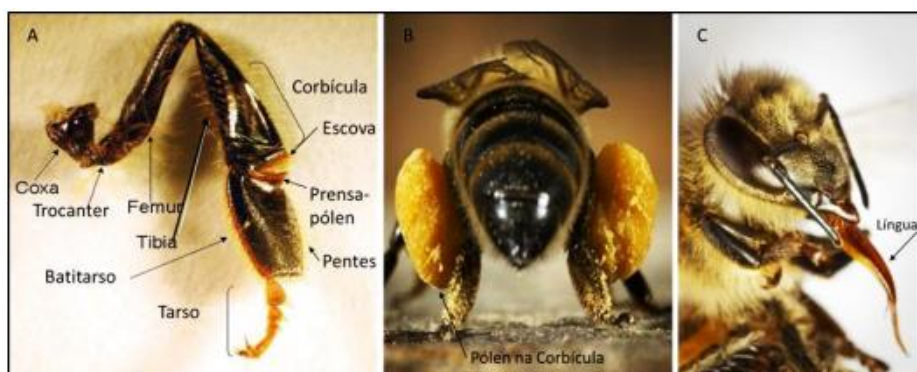
Ransome (1937) reporta que os egípcios em 2600 a.C. foram os primeiros povos a praticar a criação de abelhas para a extração do mel, que por sua vez transferiram as técnicas para os romanos (150 a.C.), que espalharam a arte por toda extensão da Europa, inclusive aos principais colonizadores do Novo Mundo.

Nos dias atuais, as abelhas têm sido usadas para a produção de mel, cera de abelha, geleia real, própolis, pólen e veneno (SPERANDIO *et al.*, 2019). Porém, de longe, a polinização é uma das práticas mais importantes destes insetos. Deloitte (2013) relata que, em valores monetários, os serviços de polinização são estimados em mais € 153 bilhões, o que representa cerca de 9,5% do valor total da produção agrícola.

Essas abelhas quando visitam as flores, contribuem para a produção de frutos e sementes por meio da polinização (MCGREGOR, 1976). A polinização das abelhas é considerada essencial para produção de mais de 80% das culturas angiosperma (SPERANDIO *et al.*, 2019). Cinquenta e dois dos 115 principais produtos alimentares globais são dependentes da polinização das abelhas (KLEIN *et al.*, 2007). A abelha é o polinizador mais importante para a maioria das monoculturas do mundo (vanENGELSDORP; MEIXNER, 2010).

As abelhas possuem estruturas que permitem a coleta e transporte do pólen, compreendendo a tíbia e batitarso das pernas metatorácicas das abelhas operárias (Figura 2A). Essas estruturas prensam o pólen na corbícula (face externa da tíbia) (Figura 2B), além de possuir uma língua capaz de coletar o néctar em seus pastoreios (Figura 2C) (DANFORTH, 2007; GUPTA, 2014; ZALUSKI, 2017).

**Figura 2.** Estruturas de coleta e transporte dos recursos da operária de *Apis mellifera*. A) Perna compreendendo a tíbia e batitarso. B) Pólen unido à corbícula. C) Língua estendida



Fonte: Retirado de Zaluski (2017)

### 3.1.1 A apicultura no Brasil

As primeiras colmeias de abelhas melíferas trazidas para o Brasil foram das raças *Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera caucasica* e *Apis mellifera carnica* (RAMOS; CARVALHO, 2007).

As abelhas da raça *Apis mellifera scutellata* foram introduzidas em 1956, para Rio Claro, São Paulo, por meio do professor Warwick Estevan Kerr, que pesquisava linhagens mais adaptadas às condições tropicais e com elevada produtividade (RAMOS; CARVALHO, 2007). As rainhas trazidas, após 45 dias da introdução, enxamearam com suas colmeias, e conseqüentemente, o seu material genético foi hibridizado com as abelhas existentes no Brasil, formando um polihíbrido adaptado às diversidades ambientais presentes no território nacional (RAMOS; CARVALHO, 2007).

Ribeiro *et al.* (2019) relatam que a elevada expansão da apicultura brasileira ocorreu em meados dos anos 1970, devido a tecnologias desenvolvidas para a produção de mel e outros produtos apícolas. Essa condição impactou até os dias atuais, fortalecendo o setor para o cenário exterior mundial. Os méis produzidos no Brasil são notáveis por sua qualidade e sabor, e constantemente são premiados internacionalmente (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, a produção de mel no Brasil foi aproximadamente de 51,50 milhões de quilogramas no ano de 2020, com valor de produção de 621 milhões de reais.

Grande parte desta produção se concentra nas regiões Sul e Nordeste do país (IBGE, 2021). Essas informações estão presentes na Tabela 1.

**Tabela 1.** Produção de mel e seu valor de diferentes regiões do Brasil

<b>Região</b>	<b>Produção de mel (milhões de quilogramas)</b>	<b>Valor da produção (milhões de reais)</b>
<b>Norte</b>	1,00	19
<b>Nordeste</b>	19,32	196
<b>Centro Oeste</b>	1,86	33
<b>Sul</b>	19,61	250
<b>Sudeste</b>	9,69	122
<b>Brasil</b>	51,50	621

Fonte: Retirado de IBGE, 2021- Pesquisa de Pecuária Municipal

A região Sudeste soma cerca de 9,69 milhões de quilogramas produzidos no ano de 2021. Desses, cerca de 4,48 milhões de quilogramas são provenientes do estado de São Paulo, o maior produtor da região (IBGE, 2021).

Dentre os principais problemas da apicultura no Brasil, cita-se os períodos de estiagem, alta temperatura e baixa umidade relativa do ar. Essas adversidades resultam em baixa disponibilidade de alimento no campo e microclima desfavorável dentro da colmeia. Para amortização dessas condições, práticas como alimentação suplementar, sombreamento e fornecimento de água para as colônias são de suma importância (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Com isso, as instalações adequadas para um apiário devem possuir sombreamento e uma boa topografia, além de fácil acesso a alimento e água abundante em um raio máximo de 2500 metros (WOLFF *et al.*, 2006) (Figura 3).

**Figura 3.** Instalações de um apiário adequado, com sombreamento natural e artificial, além de acesso a água e pasto apícola





Fonte: Retirado de RIBEIRO *et al.* (2019)

Essas instalações, portanto, são alocadas em zonas rurais e dividem espaço com grandes culturas no Brasil. A expansão no território nacional, bem como a utilização dos agrotóxicos para incrementos dos cultivos agrícolas, tem ameaçado a biodiversidade e os serviços ecossistêmicos fornecidos pelas abelhas (GARIBALDI *et al.*, 2011). No país existem casos dessas áreas apícolas que foram prejudicadas, ocorrendo morte repentina de milhões de abelha, através da intoxicação pelos agrotóxicos (PIRES *et al.*, 2016).

### **3.2 Impacto dos agrotóxicos em abelhas**

Pela dependência dos cultivos para controlar plantas daninhas, fungos e artrópodes para a garantia de altos rendimentos na agricultura, as abelhas podem frequentemente serem expostas aos agrotóxicos durante suas atividades de forrageamento (vanENGELSDORP *et al.*, 2010).

Os efeitos dos agrotóxicos podem ocasionar efeitos diretos, como a morte da colmeia por toxicidade aguda, ou até mesmo os efeitos subletais, como paralisia, desorientação e mudança comportamental (vanENGELSDORP *et al.*, 2010).

Essa intoxicação subletal é comum e ocorre porque os agrotóxicos sistêmicos, quando aplicados, são absorvidos e translocam-se na planta via

floema, podendo contaminar o néctar, pólen e resinas que são coletadas pelos insetos (RENZI, 2013).

A preocupação com os agrotóxicos surgiu posterior a Segunda Guerra Mundial. Durante esta época, houve investimento em pesquisa e desenvolvimento de moléculas para fins de controlar pragas que ameaçavam as atividades humanas (ZALUSKI, 2017). O fato se procedeu aos dias atuais para um setor multimilionário, contendo mais de 6.400 ingredientes ativos, metabólitos, adjuvantes e solventes utilizados em formulações dos agrotóxicos (CARSON, 2010).

Em uma escala global, muitos efeitos da utilização dos agrotóxicos já foram reportados. A síndrome *Colony Collapse Disorder* (CCD), relatada inicialmente em 2006, afetou diretamente as abelhas melíferas, com impacto significativo na redução global de polinizadores (ZALUSKI, 2017). A CDD foi caracterizada como uma perda repentina de operárias na colmeia, abandono das crias e do alimento no ninho (vanENGELSDORP *et al.*, 2009).

Registros demonstram que nos Estados Unidos, importante país produtor de mel e expoente produtor agrícola, já houveram perdas de mais de 50% das colmeias ao ano, distante do que naturalmente é ocorrido (cerca de 10% ao ano) (LEE *et al.*, 2015). Foi documentada que as principais causas do CCD são os agrotóxicos (FRANCIS *et al.*, 2013).

Para o Brasil, o cenário também é preocupante no que diz respeito a preservação das abelhas. O país é o maior consumidor mundial de agrotóxicos, com 430 ativos e 1400 formulações de produtos usados na agricultura. Estima que, em 2015, foram aplicados mais de 899 milhões de litros de agrotóxicos em produtos formulados (PIGNATI *et al.*, 2017).

Essa preocupação com os insetos polinizadores expostos aos agrotóxicos não pressagia somente a apicultura ou a agricultura, perante a segurança alimentar, mas também tem ameaças antropológicas. A diminuição dos enxames afeta as indústrias (MCMENAMIN; FLENNIKEN, 2018), alteram o clima (KLEIN *et al.*, 2017) e promovem um abastecimento alimentar inadequado (BRANCHICCELA *et al.*, 2021).

### 3.2.1 O fungicida piraclostrobina e as abelhas melíferas

As estrobilurinas, como a piraclostrobina, pertencem a um grupo de fungicidas com ação preventiva e são utilizadas em todo o mundo. A piraclostrobina inibe a respiração mitocondrial ao interromper a transferência de elétrons no local de oxidação do quinol (KANUNGO; JOSHI, 2014).

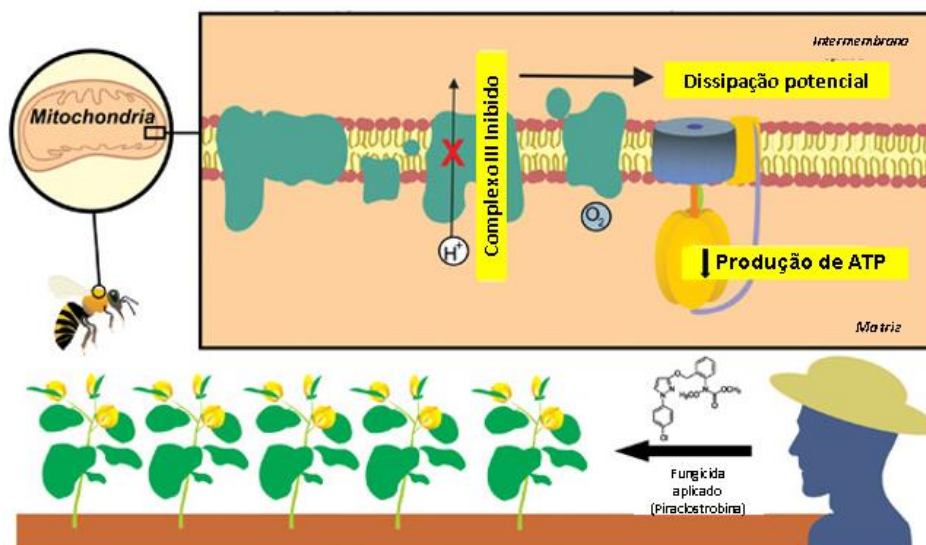
A aplicação de piraclostrobina é recomendada para proteção de diversos cultivos, tais como abacaxi, algodão, amendoim, banana, batata, café, cana-de-açúcar, feijão, manga, maracujá, milho, pimentão, soja, tomate e trigo (BASF-THE CHEMICAL COMPANY, 2017).

A piraclostrobina pode ser translocada para as flores das plantas. Já foram detectadas altas concentrações de estrobilurinas em amostras de pólen (PETTIS *et al.*, 2013). Degrandi-Hoffman *et al.* (2015) demonstraram efeitos adversos do fungicida piraclostrobina em *A. mellifera* similares aos de má nutrição. Essa condição pode comprometer toda colônia, facilitando o ataque de pragas e doenças ao enxame.

Estudos recentes demonstram que a mesma inibição respiratória mitocondrial promovida em fungos também é observada em abelhas melíferas quando expostas à molécula de piraclostrobina. O fungicida atua como um inibidor da cadeia respiratória, afetando a bioenergética mitocondrial no tórax das abelhas (NICODEMO *et al.*, 2020) (Figura 4).

Nicodemo *et al.* (2020) concluem também que a piraclostrobina reduz a síntese de trifosfato de adenosina (ATP) gerado pela mitocôndria, e que essa condição se torna crítica, pois as abelhas demandam elevada quantidade de energia para realizar seus voos e demais atividades.

**Figura 4.** Como a piraclostrobina interfere na função mitocondrial da abelha



Fonte: Extraído de NICODEMO *et al.* (2020)

### 3.3 A própolis

A própolis é uma mistura complexa de substâncias recolhida pelas abelhas, proveniente dos brotos de algumas árvores e plantas, que contêm substâncias como materiais lipofílicos, látex, resinas, bem como de exsudados de feridas nas plantas (FISCHER *et al.*, 2021).

A palavra grega “própolis” revela seu uso pelas abelhas na colmeia: pro= para ou em defesa, e polis = a cidade, ou seja, em “defesa da colmeia”. Nomeadamente, na colmeia, a própolis atua contra microrganismos e parasitas, na reparação de fendas ou partes danificadas da colmeia, na garantia séptica de locais para a postura de ovos pela abelha rainha e na mumificação de insetos e outros invasores (MOREIRA *et al.*, 2011).

Dentre suas explorações econômicas, se destaca a terapêutica, pois apresenta propriedades antibacteriana, antiviral, antitumoral, antifúngica, antioxidante e imunomoduladora (SFORCIN, 2016).

A sua utilização remonta aos primórdios da humanidade, sendo que as primeiras referências a este produto surgem com os egípcios por volta de 300 a.C., como um material no processo de mumificação dos Faraós, e preservação de túmulos e papiros (MOREIRA *et al.*, 2011).

A sua coloração pode variar entre castanho, amarelo, verde e vermelho, e possui um odor extremamente forte e característico, maioritariamente originado pelos compostos voláteis existentes na substância (GHISALBERTI *et al.*, 1979).

### **3.3.1 A própolis verde: produto nacional**

A própolis verde é uma substância específica, produzida por abelhas *A. mellifera* após a coleta de resinas das folhas alecrim do campo (*B. dracunculifolia*), uma planta nativa do Brasil, anteriormente aos estudos botânicos, considerada infestante de pastagens do território nacional (BESERRA *et al.*, 2021).

Os elevados teores dos fenóis Artepelin C e Bacharina na própolis verde geram elevada importância econômica, pois promovem a principal atividade biológica da resina (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Estes compostos fenólicos possuem alta seletividade para combate de células tumorais e se destacam se pelas propriedades farmacológicas existentes. Essa condição gerou uma valorização do alecrim do campo no país ao longo do tempo (BESERRA *et al.*, 2021).

Sabe-se que o Brasil é o terceiro maior produtor de própolis do mundo, sendo o único a produzir e exportar própolis verde para os outros países (BERRETTA *et al.*, 2017).

### **3.3.2. O uso de própolis na dieta de abelhas melíferas**

A própolis é amplamente descrita como suplemento benéfico para saúde de diversos animais, como aves (PETRUŠKA *et al.*, 2013), peixes (GULHAN *et al.*, 2012), ratos (SHIMIZU *et al.*, 2008) e humanos (YUKSEL; AKYOL, 2016). Porém, são escassos os estudos amplos que abordam a ação da própolis no sistema imune das próprias abelhas *A. mellifera*.

Simone *et al.* (2009) verificou o efeito da própolis nas cargas bacterianas presentes na colônia e na imunidade das abelhas e observaram que os tratamentos que receberam a própolis apresentaram menor carga bacteriana e menor expressão de genes divergentes a imunidade da abelha, indicando que abelhas que vivem em colônias com a presença de própolis são capazes de

gastar menos energia nas funções imunológicas além de estarem produtivas e saudáveis.

Niu *et al.* (2011) observaram que o fornecimento de uma alimentação suplementar com própolis reduziu a toxicidade de micotoxinas nas abelhas, possivelmente pela função adjuvante que a própolis possuiu na ação desintoxicante.

Souza (2016) verificou a adição do efeito da própolis no sistema imune, expressão gênica e detoxificação frente ao inseticida Fipronil em abelhas melíferas e concluíram que o consumo da própolis pelas abelhas pode induzir a expressão de genes como *abaecin*, *hymenoptaecin*, *apidaecin* e *defensin1*, além de reduzir a mortalidade da colmeia pela toxicidade do Fipronil.

Cabe ressaltar que, não se encontraram relatos na literatura sobre a utilização da própolis verde como suplementação das dietas de abelha melíferas, assim como não se reporta o efeito antioxidante do mesmo na presença do fungicida piraclostrobina, demonstrando tal relevância ao tema e importância dessa pesquisa.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Local do Experimento

O experimento foi realizado na FCAT – Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - UNESP - Universidade Estadual Paulista, Campus de Dracena, no Laboratório de Ecologia e Insetos Úteis e no Laboratório de Bioquímica Metabólica e Toxicológica (LaBMeT).

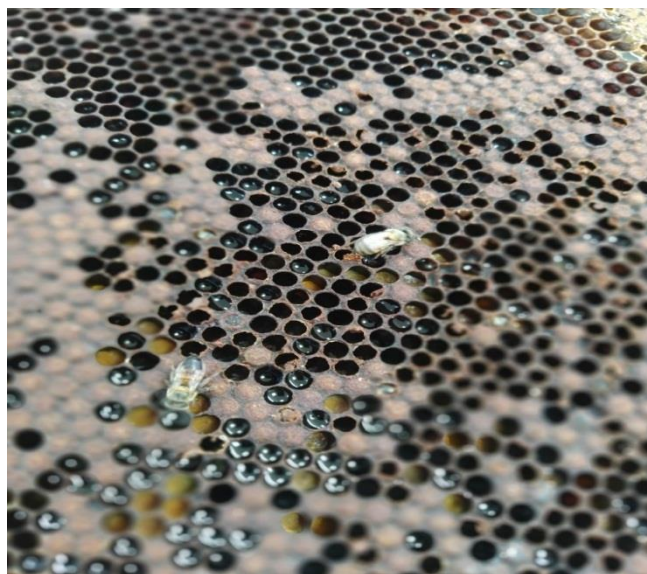
### 4.2 Reagentes

Foi adquirido o princípio ativo piraclostrobina da Sigma-Aldrich e empregado o solvente acetona para o preparo de soluções com este fungicida. Foi adquirido extrato aquoso de própolis verde, com 11% de extrato seco, da empresa Apis Flora.

### 4.3 Abelhas, dietas e alimentação

Foram utilizadas abelhas melíferas (*Apis mellifera*) de três colônias instaladas em colmeias modelo Langstroth, do apiário experimental da FCAT. Quadros com cria operculada (Figura 5) prestes a nascer foram retirados das colmeias e mantidos em estufa a 33°C e umidade de 70% até as operárias emergirem.

**Figura 5.** Quadro contendo abelhas prestes a nascer e recém nascidas



Fonte: Aatoria Própria



Para os testes de determinação de DL<sub>50</sub> e determinação da sobrevivência, 10 abelhas recém nascidas foram colocadas em cada gaiola plástica, que apresentavam aberturas que permitiam a troca gasosa (Figura 6).

**Figura 6.** Gaiolas vazia (esquerda) e com uma abelha e alimentadores (direita)



Fonte: Autoria Própria

Foram estabelecidos seis tratamentos, a fim de se determinar a DL<sub>50</sub> da piraclostrobina por ingestão e a mortalidade de abelhas alimentadas com xarope enriquecido com própolis verde (Tabela 2)

**Tabela 2.** Ingredientes utilizados nas dietas utilizadas para determinação da DL<sub>50</sub> de piraclostrobina e a mortalidade de abelhas que consumiram própolis verde em diferentes concentrações (para 10 abelhas).

<b>Tratamentos</b>	<b>Piraclostrobina</b>	<b>Acetona</b>	<b>Própolis verde</b>	<b>Xarope*</b>
	(µg)	(µl)	(µl)	(µl)
<b>Controle</b>	0	20	-	480
<b>Pi25</b>	250	20	-	480
<b>Pi50</b>	500	20	-	480
<b>Pi75</b>	750	20	-	480
<b>Pi100</b>	1000	20	-	480
<b>Pro10</b>	-	-	10	490
<b>Pro20</b>	-	-	20	480
<b>Pro50</b>	-	-	50	450
<b>Pro100</b>	-	-	100	400
<b>Pro200</b>	-	-	200	300

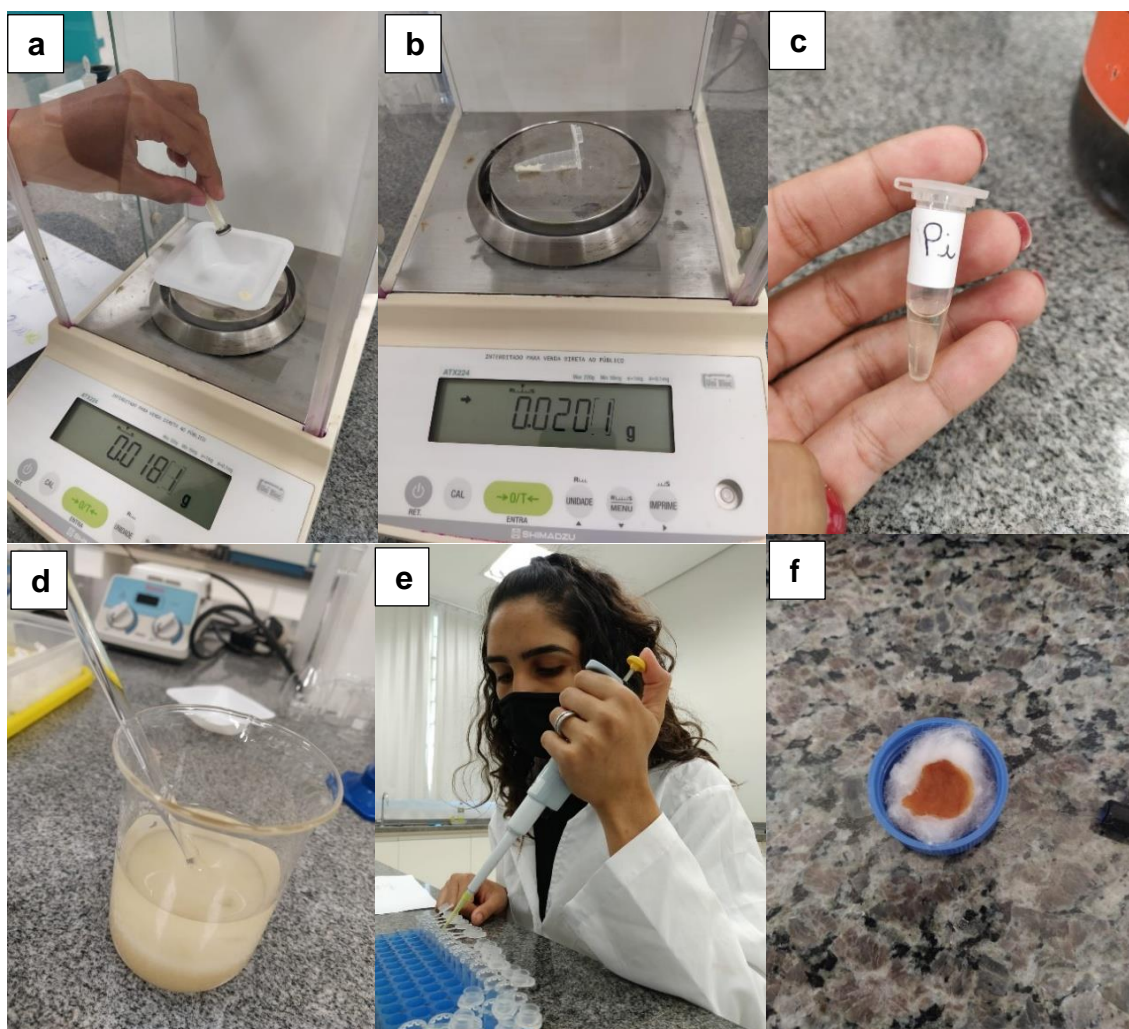
\*Água e açúcar em proporções iguais.



Fonte: Dados de Pesquisa do Autor

As dietas experimentais foram fornecidas e as abelhas puderam se alimentar por um período de 24 horas. Em seguida, foi fornecido apenas xarope, contendo água e açúcar em iguais proporções (Figura 7).

**Figura 7.** Processo realizado para o fornecimento das dietas. Pesagem da piraclostrobina (**a e b**); diluição da piraclostrobina em acetona (**c**); preparo da solução de xarope (**d**); preparo das diferentes dietas para a avaliação da DL50 de piraclostrobina (**e**) e o método de fornecimento da dieta, em chumaço de algodão (**f**).



Fonte: Autoria Própria

#### 4.4 Determinação da DL<sub>50</sub> por ingestão da piraclostrobina

Para determinar a DL<sub>50</sub> por ingestão da piraclostrobina, foram utilizados os alimentos descritos na Tabela 2 (OECD, 1998), registrando-se o número de abelhas mortas por um período de 48 horas.

#### 4.5 Consumo das dietas

Foi avaliado o consumo médio de alimento pelas operárias. Antes do oferecimento das dietas às abelhas, cada chumaço de algodão já embebido da respectiva dieta (500 µl) foi pesado e então colocado na gaiola.

Após 24 horas do oferecimento da dieta, o chumaço de algodão foi novamente pesado para se avaliar o consumo, o qual foi obtido pela diferença entre o peso entre a primeira e segunda pesagens. Os valores obtidos foram divididos pelo número de abelhas presentes na gaiola após o período de fornecimento das dietas.

#### 4.4 Teste de sobrevivência das abelhas

Após a determinação da DL<sub>50</sub>, foi considerada uma dose subletal para realizar os testes de sobrevivência média. Quadros com cria operculada foram retirados das colmeias e mantidos em ambiente controlado (temperatura de 33°C e umidade do ar de 70%) para que as abelhas nascessem. Em seguida, as abelhas foram coletadas e colocadas em potes para receberem as dietas experimentais com piraclostrobina e própolis verde (Tabela 3).

**Tabela 3.** Ingredientes utilizados nas dietas utilizadas para determinação da sobrevivência média de abelhas que consumiram alimento com piraclostrobina e própolis verde (para 10 abelhas).

Tratamentos	Piraclostrobina (µg)	Acetona (µl)	Própolis verde (µl)	Xarope* (µl)
<b>Controle</b>	0	20	-	480
<b>Pi25</b>	250	20	-	480
<b>Pro10</b>	250	20	10	470
<b>Pro20</b>	250	20	20	460
<b>Pro50</b>	250	20	50	430

\*Água e açúcar em proporções iguais.

Fonte: Dados de Pesquisa do Autor

Para essa etapa experimental, além das dietas testadas oferecidas para abelhas, também foi fornecido 1 grama de pólen por gaiola juntamente com a alimentação, a cada três dias. Este pólen foi acrescido com algumas gotas de xarope para ser ofertado nas dietas (Figura 8).

**Figura 8.** Fornecimento do pólen as dietas experimentais. Pólen bruto **(a)**, pólen acrescido de xarope **(b)** e o pólen colocado no alimentador **(c)**.

Fonte: A autoria própria



#### 4.5 Análises estatísticas

A DL50 de ingestão de piraclostrobina com base na mortalidade por um período de 48 horas foi calculada utilizando-se uma calculadora de Análise Probit (Mekapogu, 2021), baseado no modelo de Finney (1952).

Para verificar se houve preferência por algum dos alimentos pelas abelhas, foi avaliado o consumo de xarope, a partir da diferença do peso do alimentador com alimento e após o período de 24 horas, considerando-se as perdas por evaporação. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Tukey a um nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ).

O consumo de xarope com própolis pelas abelhas foi comparado com o xarope sem própolis (controle), pelo teste t.

Para a avaliação da taxa de sobrevivência das abelhas (%), foi utilizado o método não paramétrico de Kaplan-Meier e, para comparação dos grupos, foi utilizado o teste Log-Rank.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A DL50 de piraclostrobina por ingestão, em 48 horas, foi de  $60,8 \pm 0,13$   $\mu\text{g}/\text{abelha}$ . Por meio dos dados de mortalidade das abelhas, foi possível obter a equação:  $Y = 1,5984x + 2,1506$  ( $R^2 = 0,8735$ ).

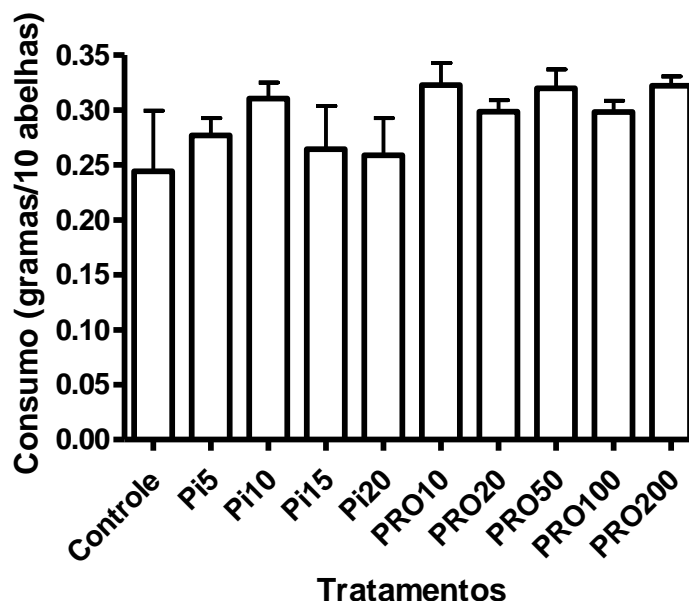
A DL50 expressa o grau de toxicidade aguda de substâncias químicas, correspondendo à dose suficiente para matar 50% dos animais de um lote utilizados num experimento (PETTIS *et al.*, 2013). Esses valores obtidos são importantes para demonstrar a toxicidade aguda dos agrotóxicos para a abelha (ZALUSKI, 2017).

Em outro trabalho de pesquisa, concluiu-se que a DL50 da piraclostrobina foi de  $73,47 \mu\text{g}/\text{abelha}$  (BASF, THE CHEMICAL COMPANY, 2017). Apesar deste trabalho apresentar uma DL50 inferior ao citado para a comparação, ambas doses estão categorizadas como substâncias pouco tóxicas para abelhas (DEVILLERS, 2002).

Com relação ao consumo de xarope, observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos que receberam piraclostrobina ou própolis, em diferentes concentrações, inclusive em relação ao controle ( $p > 0,20$ ) (Figura 9).

Foi observado um consumo médio de xarope entre 0,24 gramas (tratamento controle) e 0,33 gramas/10 abelhas (tratamento PRO 10). Lima *et al.* (2017), em estudo de fornecimento de complexos enzimáticos como suplemento na alimentação artificial de abelhas melíferas obtiveram valores médios de consumo da dieta estimados em 0,27 gramas/10 abelhas, valores semelhantes ao desta pesquisa.

**Figura 9.** Consumo de xarope sobre diferentes concentrações de piraclostrobina e própolis verde fornecidos na dieta de abelhas melíferas



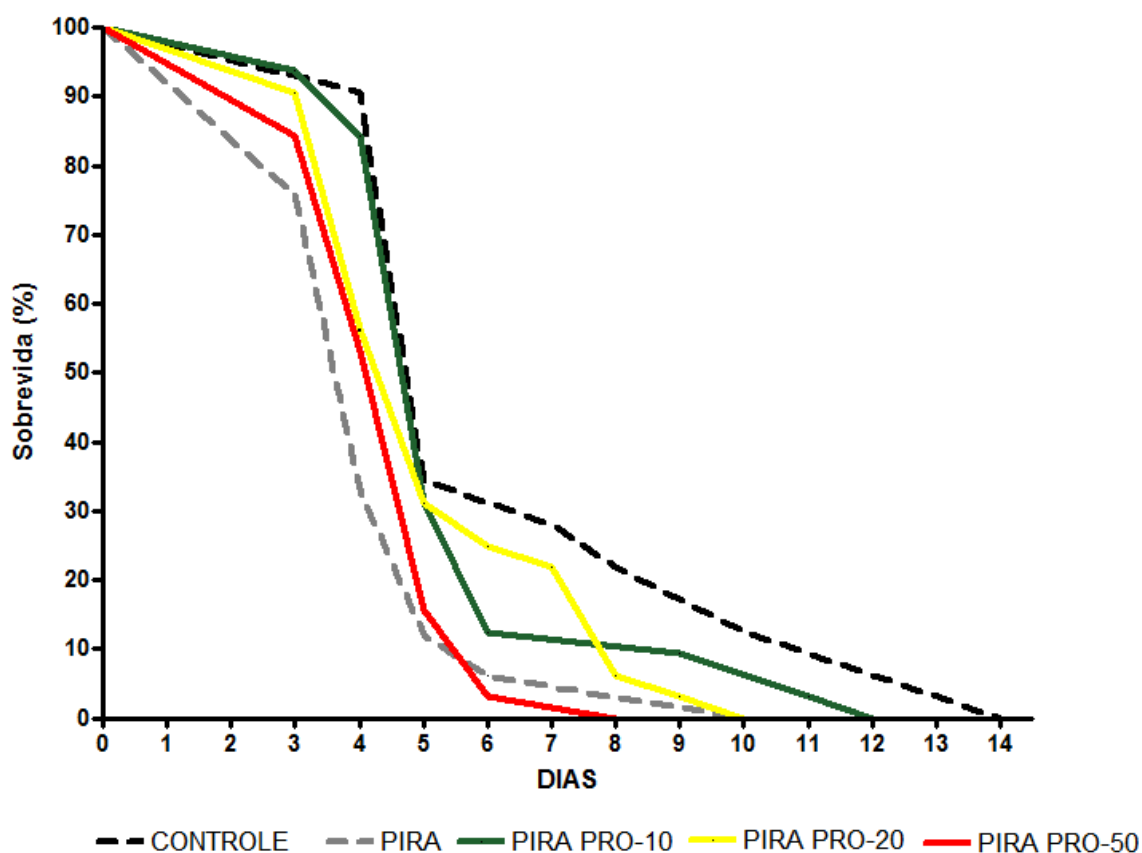
Fonte: Dados de Pesquisa do Autor

Balieira (2017), avaliando dietas contaminadas com o inseticida imidacloprido e o potencial antioxidante da cafeína em abelhas melíferas obteve maior consumo das dietas experimentais (médias de consumo de 0,0327 gramas/abelhas) com a maior quantidade do inseticida presente na dieta (tratamento contendo 0,3 ng de imidacloprido/abelha). Neste trabalho, ressalta-se também que não houve diferença significativa com a adição de cafeína ou cafeínaimidacloprido para as dietas das abelhas.

Os agrotóxicos podem estimular as abelhas consumirem mais alimento, e gerar uma condição preocupante, pois essas moléculas são prejudiciais à saúde da colmeia, e conseqüentemente podem causar um declínio populacional destes insetos (BALIEIRA, 2017). Essa condição não foi obtida nesta pesquisa, demonstrando que o fungicida piraclostrobina não estimula o consumo da dieta pelas abelhas, assim como a adição da própolis verde.

Na figura 10, é possível verificar as curvas de sobrevivência das abelhas em função do alimento que receberam, em função da presença ou não de piraclostrobina e de própolis nos xaropes, esta última em diferentes concentrações. Foi obtida uma sobrevivência média das abelhas do grupo controle de quatro dias.

**Figura 10.** Sobrevivência estimada de abelhas melíferas alimentadas com dietas contendo piraclostrobina e/ou própolis e controle (Logrank,  $\chi^2 = 16,58$ ; g.l.= 4;  $p < 0,0023$ ).



Fonte: Dados de Pesquisa do Autor

As abelhas que receberam alimento contendo o fungicida piraclostrobina e sem a própolis sobreviveram, em média, por três dias. Quando o alimento foi acrescido de própolis, além de piraclostrobina, a sobrevivência média foi de quatro dias (tratamentos PIRA PRO-10, PIRA PRO-20 e PIRA PRO-50)

A redução da sobrevivência das abelhas contaminadas com doses subletais de piraclostrobina já foi constatada também em abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* (Domingues *et al.* 2020). Os autores observaram redução no tempo de sobrevivência das abelhas exposta diariamente a dietas com piraclostrobina em cerca de 3,72 dias (tempo letal mediano de 9,84 dias para controle e de 6,12 dias para tratamento contendo 0.025 ng i.a. do fungicida/  $\mu$ L).

Essa toxicidade com subdoses do fungicida pode gerar danos morfológicos no intestino dos insetos causados pela contaminação (Domingues *et al.*, 2020), além de interferir toda colônia, pois compromete a demanda

energética destinada ao forrageamento e entrada de recursos na colmeia (Nicodemo *et al.*, 2020).

A redução da sobrevivência implica em queda abrupta da população das abelhas e conseqüentemente redução da produção apícola, além de ser um indício para outros problemas, como falta de coordenação dos movimentos, tremores e quedas (PEREIRA, 2010). Produtos com essas características devem ser evitados próximos de áreas apícolas, principalmente em épocas de floradas das culturas, momentos do forrageamento das abelhas (PETTIS *et al.*, 2013).

Contudo, o fornecimento da própolis verde pode ser uma forma suplementar de reduzir os danos causados pela a exposição do fungicida. Quando o alimento foi acrescido de própolis, além de piraclostrobina, a sobrevivência média foi de quatro dias, para os tratamentos com as diferentes concentrações de própolis avaliadas (Figura 9).

Esses resultados corroboram com o trabalho de Niu *et al* (2011), que observou redução da toxicidade de micotoxinas que acometem frequentemente as colmeias de abelhas melíferas com a adição de própolis a sua dieta. Os autores justificam que possivelmente a própolis tenha ocasionado esse efeito benéfico às abelhas por aumentar consideravelmente as enzimas de desintoxicação. Condição que, pode se fazer presente a este trabalho.

Essa desintoxicação também foi observada por Souza (2016), que estudou a intoxicação de abelhas com o inseticida Fipronil. A dieta experimental, constituída de 10% de própolis resultou em menores taxas de mortalidades das abelhas aos 15 e 30 dias. Porém, estudos aprofundados são necessários, para se compreender como ocorre essa ação protetora e os principais mecanismos de desintoxicação a partir da própolis.

Sendo assim, pode-se sugerir que o uso da própolis verde favoreceu de alguma forma a saúde das abelhas, de tal forma que a sobrevivência fosse acrescida em um dia, na comparação com abelhas do grupo que não recebeu alimento com própolis e foi intoxicado por ingestão com piraclostrobina. Destacamos que, em específico, este é o primeiro relato que a própolis verde favorece a saúde das abelhas em condições experimentais através da ingestão do fornecimento das dietas.



## 6 CONCLUSÃO

A DL50 de piraclostrobina por ingestão, encontrada nessa pesquisa foi de  $60,8 \pm 0,13 \mu\text{g/abelha}$ .

As concentrações testadas de piraclostrobina e própolis verde não interferiram no consumo das dietas das abelhas melíferas.

A própolis verde possuiu ação redutora da toxicidade da piraclostrobina, elevando a sobrevivência das abelhas expostas ao fungicida em 1 dia.

Sugere-se novos estudos com a própolis verde fornecida em dietas de abelhas melíferas, aprofundando aos principais mecanismos de desintoxicação presentes na literatura.



## 7 REFERÊNCIAS

ARNOULT, Damien *et al.* The role of mitochondria *in* cellular defense against microbial infection. **Seminars in immunology**, v. 21, n. 4, p. 223-232, 2009.

BALIEIRA, Kamila Vilas Boas. **Efeito oxidante do imidacloprido em abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.) e potencial ação antioxidante da cafeína**. 42 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal), Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', Dracena, 2017.

BASF, THE CHEMICAL COMPANY. **Ficha de informação de segurança de produto químico: Comet®**, Brasil, Basf. 2017. Disponível em: <[http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt\\_BR/function/conversions:/publish/content/APBrazil/solutions/fungicidas/FISPQ/FISPQ\\_-\\_COMET.pdf](http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt_BR/function/conversions:/publish/content/APBrazil/solutions/fungicidas/FISPQ/FISPQ_-_COMET.pdf)>. Acesso em: 19 dez.2021.

BERRETTA, Andresa A. *et al.* **Functional properties of Brazilian propolis: from chemical composition until the market**. *In*: Superfood and functional food-an overview of their processing and utilization. IntechOpen, p. 55-96. 2017.

BESERRA, Fernando Pereira *et al.* Artepillin C as an outstanding phenolic compound of Brazilian green propolis for disease treatment: A review on pharmacological aspects. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 5, p. 2274-2286, 2021.

BRANCHICCELA, Belén *et al.* Can pollen supplementation mitigate the impact of nutritional stress on honey bee colonies? **Journal of Apicultural Research**, p. 1-9, 2021.

CARSON, Rachel. **Primavera Silenciosa**. Gaia Editora, 328p, 2010.

CRANE, Eva. **History of honey**. *In* E. Crane [ed.], Honey. Heinemann, London, p. 439-488, 1975.

CRANE, Eva. Recent research on the world history of beekeeping. **Bee World**, v. 80, n. 4, p. 174-186, 1999.

DANFORTH, Bryan. Bees. **Current biology**, v. 17, n. 5, p.156-161, 2007.

DEGRANDI-HOFFMAN, Gloria *et al.* A comparison of bee bread made by Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) and its effects on hemolymph protein titers. **Apidologie**, v. 44, n. 1, p. 52-63, 2013.

DEGRANDI-HOFFMAN, Gloria *et al.* Effects of oral exposure to fungicides on honey bee nutrition and virus levels. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 6, p. 2518-2528, 2015.

DEVILLERS, James. **Acute toxicity of pesticides to honey bees**. *In*: Honey Bees. CRC Press, p. 70-80, 2002.

DOMINGUES, Caio Eduardo *et al.* Fungicide pyraclostrobin affects midgut morphophysiology and reduces survival of Brazilian native stingless bee *Melipona scutellaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 206, p. 111395, 2020.

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

FINNEY, D. J., Ed. **Probit Analysis**. Cambridge, England, Cambridge University Press, 1952.

FISCHER, Geferson *et al.* Imunomodulação pela própolis. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 247-253, 2021.

FRANCIS, Roy M *et al.* Varroa-virus interaction in collapsing honey bee colonies. **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e57540, 2013.

GARIBALDI, Lucas A. *et al.* Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 108, n. 14, p. 5909-5914, 2011.

GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. **Bee World**, v.60, p.59-84, 1979.

GULHAN, Fuat *et al.* Effects of propolis on microbiologic and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to the pesticide. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 11, n. 3, p. 490-503, 2012.

GUPTA, Rakesh Kumar. Taxonomy and distribution of different honeybee species. *In: Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security*. Springer, Dordrecht, p. 63-103, 2014.

IBGE. Produção Pecuária Municipal 2021. Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/2041-np-producao-da-pecuaria-municipal.html> > Acesso em 19 nov. 2021.

KANUNGO, Mansi; JOSHI, Juhie. Impact of pyraclostrobin (F-500) on crop plants. **Plant Science Today**, v. 1, n. 3, p. 174-178, 2014.

KLEIN, Alexandra-Maria *et al.* Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the royal society B: biological sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

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

LIMA, M. V. *et al.* Complexo enzimático na alimentação artificial de abelhas africanizadas. **Archivos de zootecnia**, v. 66, n. 255, p. 415-420, 2017.

MCGREGOR, Samuel Emmett. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington (DC), US Department of Agriculture Research Service, 1976.

MEGAPOGU, A. R. Finney's probit analysis spreadsheet calculator (Version 2021). 2021. Disponível em: < <https://probitanalysis.wordpress.com> > Acesso em 05 dez 2021.

MOREIRA, Leandro L. *et al.* Propolis influence on erythrocyte membrane disorder (hereditary spherocytosis): A first approach. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 2, p. 520-526, 2011.

NICODEMO, Daniel *et al.* Mitochondrial respiratory inhibition promoted by Pyraclostrobin *in* fungi is also observed *in* honey bees. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 39, n. 6, p. 1267-1272, 2020.

NIU, Guodong *et al.* Toxicity of mycotoxins to honeybees and its amelioration by propolis. **Apidologie**, v. 42, n. 1, p. 79-87, 2011.

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. **Honeybees, Acute Oral Toxicity Test**, n.213, set. 1998b. 8p.

OLIVEIRA, Pollyanna Francielli *et al.* Comparative evaluation of antiproliferative effects of Brazilian green propolis, its main source *Baccharis dracunculifolia*, and their major constituents artemillin C and baccharin. **Planta médica**, v. 80, n. 06, p. 490-492, 2014.

PEREIRA, Andriago Monroe. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas**. 125 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas-Zoologia) Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', Rio Claro, 2010.

PETRUŠKA, Peter *et al.* Efeito da própolis na dieta de frangos sobre parâmetros selecionados do perfil mineral. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 2021, p. 593-600, 2021.

PETTIS, Jeffery *et al.* Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. **PloS one**, v. 8, n. 7, p. e70182, 2013.

PIGNATI, Wanderlei Antonio *et al.* Spatial distribution of pesticide use *in* Brazil: a strategy for Health Surveillance. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

PIRES, Carmen Silvia *et al.* Weakness and collapse of bee colonies *in* Brazil: are there cases of CCD? **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v51, n.5, p. 422-442, 2016.

RAMOS, Juliana Mistrioni; CARVALHO, NC de. Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista científica eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 6, n. 10, p. 1-21, 2007.

RANSOME, H. **The sacred bee *in* ancient times and folklore**. Houghton Mifflin, Boston, 1937.

RENZI, Maria Teresa. **Effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.): study of a specific route of exposure and evaluation of biochemical-physiological changes *in* the assessment of the pesticides toxicity**. 2013. 108 p. Tese de Doutorado. Université d'Avignon; Università degli studi (Bologne, Italie). 2013.

RIBEIRO, Marcia de Fátima *et al.* **Apicultura e meliponicultura**. *In*: Agricultura familiar dependente de chuva no Semiárido. Embrapa Semiárido, (INFOTECA-E), p. 333-362, 2019.

RUTTNER, Friedrich. **Breeding techniques and selection for breeding of the honeybee**. British Isles Bee Breeders' Association, 1988.

SANCHEZ-BAYO, Francisco; GOKA, Koichi. Pesticide residues and bees—a risk assessment. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e94482, 2014.

SFORCIN, José M. Biological properties and therapeutic applications of propolis. **Phytotherapy research**, v. 30, n. 6, p. 894-905, 2016.

SHIMIZU, Tomomi *et al.* Anti-influenza virus activity of propolis *in vitro* and its efficacy against influenza infection *in* mice. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**, v. 19, n. 1, p. 7-13, 2008.

SIMONE, Michael *et al.* Resin collection and social immunity *in* honey bees. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, v. 63, n. 11, p. 3016-3022, 2009.

SOUZA, Edison Antonio de. **Própolis na dieta de abelhas *Apis mellifera* L. e seu efeito no sistema imune, expressão de genes após o desafio bacteriano e detoxificação frente ao agroquímico fipronil**. 73 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', Botucatu, 2015.

SPERANDIO, Giorgio *et al.* Beekeeping and honey bee colony health: A review and conceptualization of beekeeping management practices implemented *in* Europe. **Science of the Total Environment**, v. 696, p. 133795, 2019.

vanENGELSDORP, Dennis *et al.* A survey of honey bee colony losses *in* the United States, fall 2008 to spring 2009. **Journal of apicultural research**, v. 49, n. 1, p. 7-14, 2010.

vanENGELSDORP, Dennis *et al.* Colony collapse disorder: a descriptive study. **PloS one**, v. 4, n. 8, p. e6481, 2009.

VOORHIES, Edwin *et al.* **Economic Aspects of the Bee Industry**. Bulletin 555. University of California, College of Agriculture, Agriculture Experiment Station. Berkley, California. 1933.

WOLFF, Luiz Fernando *et al.* **Localização do apiário e instalação das colméias**. Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E), 2006.

YUKSEL, Sevda; AKYOL, Sumeyya. The consumption of propolis and royal jelly *in* preventing upper respiratory tract infections and as dietary supplementation *in* children. **Journal of intercultural ethnopharmacology**, v. 5, n. 3, p. 308, 2016.

ZALUSKI, Rodrigo *et al.* Field-relevant doses of the systemic insecticide fipronil and fungicide pyraclostrobin impair mandibular and hypopharyngeal glands *in* nurse honeybees (*Apis mellifera*). **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017.

ZALUSKI, Rodrigo *et al.* Modification of the head proteome of nurse honeybees (*Apis mellifera*) exposed to field-relevant doses of pesticides. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

ZALUSKI, Rodrigo *et al.* Redução da expressão de proteínas da geleia real em abelhas *Apis mellifera* nutrizes expostas ao inseticida fipronil, fungicida piraclostrobina e suas associações. *In*: Reunião Anual da SBPC, 71., 2019, Campo Grande. **Anais [...]** Campo Grande, UFMS, 2019, p. 1-4.

ZALUSKI, Rodrigo. **Efeito de dose subletal de fipronil e piraclostrobina, isoladas ou associação, na morfologia de glândulas e proteoma da cabeça de abelhas *Apis mellifera* L.** 155 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', Botucatu, 2017.