# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 09/04/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

# Efeito do tiametoxam e difenoconazol em abelhas *Apis mellifera* e produtividade da cultura do morangueiro por meio da polinização dirigida

ALINE ASTOLFI

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para Defesa de Tese de Doutorado.

BOTUCATU – SP
Março/2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

# Efeito do tiametoxam e difenoconazol em abelhas *Apis mellifera* e produtividade da cultura do morangueiro por meio da polinização dirigida

ALINE ASTOLFI

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para Defesa de Tese de Doutorado.

BOTUCATU – SP
Março/2025

A856e

Astolfi, Aline

Efeito do tiametoxam e difenoconazol em abelhas Apis mellifera e produtividade da cultura do morangueiro por meio da polinização dirigida / Aline Astolfi. -- Botucatu, 2025

86 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi

1. Abelha. 2. Cultura do morango. 3. Ambiente protegido. 4. Agrotóxicos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

**Câmpus de Botucatu**

UNESP
BOTUCATU
Seção de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
ZOOTECNIA

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Efeito do tiametoxam e difenoconazol em abelhas Apis mellífera e produtividade da cultura do morangueiro por meio da polinização dirigida.

**AUTORA: ALINE ASTOLFI**

**ORIENTADOR: RICARDO DE OLIVEIRA ORSI**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Doutor em Zootecnia, área: Nutrição e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Associado RICARDO DE OLIVEIRA ORSI (Participaçao Presencial)
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu

Profa. Dra. DARCLET TERESINHA MALERBO DE SOUZA (Participaçao Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Pernambuco (UFRPE) - Recife/PE

Professor Associado DANIEL NICODEMO (Participaçao Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV, Unesp, Câmpus de Jaboticabal

Prof. Dr. RODRIGO ZALUSKI (Participaçao Virtual)
Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural / Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

UNESP
BOTUCATU
Seção de Pós-Graduação
ZOOTECNIA

Doutor em Zootecnia YAN SOUZA LIMA (Participaçao Virtual)
Zootecnia / Instituto Federal do Sertão Pernambucano

Botucatu, 17 de março de 2025

Cláudia Cristina Mereci
Assistente Administrativo
Seção de Pós-Graduação / FMVZ

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Aline Astolfi, brasileira, filha de Solange Aparecida Rosa Astolfi e Edson Serrano Astolfi, nascida em 12/12/1979, graduada em Engenharia Agronômica pela Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP – Campus de Botucatu – SP, Especialista em Gestão Ambiental pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCar – São Carlos – SP, Mestre pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP – Campus de Botucatu – SP em Produção Animal – Apicultura e doutoranda também pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP – Campus de Botucatu – SP em Produção Animal – Apicultura.

## DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista ao meu filho Leonardo e as minhas irmãs Ingrid e Vanessa, pois sem o seu apoio e incentivo não teria chegado até aqui. Fontes de inspiração e Amor infinito!

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a minha família que me apoia, me incetiva, me compreende, em especial ao meu filho Leonardo, meu companheiro, amigo e amor infinito.

Agradeço ao Professor Ricardo de Oliveira Orsi, meu orientador, pela oportunidade do doutorado, pela amizade e pela confiança em mim depositada.

Obrigada Iloran do Rosário Corrêa Moreira, Jaine da Luz Scheffer, Isabella Cristina de Castro Lippi, Yan Souza de Lima, Guilherme Duarte Figueiredo de Souza, Laís Tainá Feliciano, Jaine Xavier, Renato Agostinho Arruda, Victor Pereira Fest, equipe maravilhosa que conheci durante o doutorado e amizades que quero levar pra vida toda.

Também quero agradecer a todos que me ajudaram no meu experimento: os estagiários, em especial Livia Peruchi Rodrigues, professores e funcionários da Fazenda Experimental Lageado; que de alguma forma contribuíram para fazer dar certo cada passo, a todos um enorme agradecimento e uma sincera oração para que Deus os abençoe.

Agradeço ao nobre coração do Arivaldo Inácio Junior, querido Dinho, que tanto me ajudou antes, durante e depois do meu experimento de campo, com a mão na massa atendendo a todos as minhas solicitações para melhorarmos a estrutura do cultivo dos morangos.

Um agradecimento especial ao engenheiro agrônomo Júlio Cesar de Oliveira, que me ajudou muito, me orientando quase que diariamente, sobre como cuidar das plantas de morangueiro, do plantio a colheita, sobre tudo, adubação, controle orgânico de pragas e doenças, florescimento, irrigação e outros tratos culturais. Muito obrigada Júlio, sem você eu não teria conseguido.

Ao Ricardo Figueira do Laboratório de Bebidas da Faculdade de Ciências Agronômica – UNESP – Botucatu – SP, meu agradecimento pela realização das análises qualitativas do morango e por nos ensinar todos os procedimentos.

Agradeço as empresas que acreditaram do meu projeto e me doaram insumos e materiais indispensáveis para a sua realização: Empresa Alfa Garden Store Casa a Jardim

LTDA pela doação de 240 vasos plásticos de um litro; Empresa Bioagro Mudas e Plantas LTDA pela doação de 300 mudas de morango da variedade San Andreas e Empresa Forth Jardim (Everaldo Junior Eller – LTDA) pela doação de dois litros de adubos foliares fontes de micronutrientes importantes para o desenvolvimento das plantas.

*"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001".*

## RESUMO GERAL

Algumas plantas dependem de polinizadores para auxiliá-las na sua reprodução, como o morangueiro, que pode produzir frutos deformados sem valor comercial, quando realiza apenas a autopolinização; sendo assim as abelhas auxiliam na polinização cruzada e produção de frutos com qualidade. Entretanto, o cultivo convencional do morangueiro depende do uso de agrotóxicos para o combater pragas e doenças, o que aumenta o risco de exposição das abelhas aos agrotóxicos na visitação das flores da cultura. Inseticidas neonicotinóides, utilizados na cultura do morangueiro agem no cérebro causando lesões no sistema cognitivo, olfativo e de navegação relacionados com o voo e comportamento de forrageamento; assim como os fungicidas trizóis que afetam o metabolismo e eliminação de agrotóxicos do organismo, comprometendo a defesa imunológica das abelhas. Diante do exposto os objetivos gerais da presente tese foram investigar os efeitos do inseticida tiametoxam (TMX) e fungicida difenoconazol (DFC) nas abelhas *Apis mellifera* em laboratório e em experimento de campo. Desta forma, a tese está dividida em quatro capítulos, o capítulo um introduz os temas estudados; o capítulo dois refere-se a revisão sistemática sobre o TMX e DFC e seus efeitos nas abelhas; o capítulo três que consiste no experimento realizado em laboratório e a campo. Em laboratório foram realizados testes de sobrevivência contaminando as abelhas com o TMX, DFC e associação dos dois produtos. A exposição foi realizada via ingestão de xarope de mel contaminado, sendo os tratamentos: C – Controle ingestão: xarope de mel; TMX - Inseticida Tiametoxam: xarope de mel contendo 1,25 µg de i.a./abelha; DFC – Fungicida Difenoconazol: xarope de mel contendo 125 µg de i.a./abelha; T+D – Associação: xarope de mail contendo 1,25 µg de i.a. de tiametoxam acrescido de 125 µg de i.a./abelha, e via contato por meio de gotícula (2 µL) de solução contendo os agrotóxicos diluídos em água destilada (C – Controle contato: água destilada; TMX – Inseticida Tiametoxam: 0,2 µg de i.a./µL; DFC contato – Fungicida Difenoconazol: 2,5 µg de i.a./µL; T+D contato – Associação: 0,2 µg de i.a. de tiametoxam acrescido de 2,5 µg de i.a./µL). A etapa de campo consistiu em oito unidades experimentais de ambiente protegido, cada uma munida com uma colônia de *A. mellifera* alojada em colmeias do tipo núcleo Langstroth

e dez vasos de morangueiro da variedade San Andreas. As plantas foram pulverizadas com a dose de bula do TMX e DFC, reduzida para a área de 0,16 m², sendo assim os tratamentos utilizados: C – Controle: plantas pulverizadas com água destilada; S/A - Sem Abelhas (autopolinização): plantas pulverizadas com água destilada; TMX - inseticida Tiametoxam: 0,00075g de i.a./m² diluído em água destilada; DFC – Fungicida Difenoconazol: 0,06 ml de i.a./m² diluído em água destilada; T+D – Associação: 0,00075g de i.a. de tiametoxam acrescido de 0,06 ml de i.a. de difenoconazol/m² diluídos água destilada. Analisou-se o desenvolvimento populacional das colônias ao longo de sete semanas e mortalidade diária de abelhas durante 15 dias após a aplicação dos tratamentos, bem como quantidade, peso, comprimento e diâmetro, acidez titulável, sólidos solúveis totais e PH dos frutos produzidos. Por fim, o capítulo quatro com as implicações do trabalho. Os testes de sobrevivência em laboratório demostraram que os agrotóxicos isolados ou associados são prejudiciais e provocam mortalidades das abelhas em pouco tempo, destacando-se os tratamentos TMX e T+D que apresentaram como doses letais, tanto para as exposições via ingestão como contato. A campo os parâmetros analizados não apresentaram diferenças significativas comparando controle e tratamentos.

**Palavras-chave:** Abelhas, Agrotóxicos, *Fragaria x ananassa* Duch., Produção agrícola.

## ABSTRACT

Some plants depend on pollinators to help them reproduce, such as the strawberry tree, which can produce deformed fruit with no commercial value when it only self-pollinates, so bees help with cross-pollination and the production of quality fruit. However, conventional strawberry cultivation depends on the use of pesticides to combat pests and diseases, which increases the risk of bees being exposed to pesticides when visiting the crop's flowers. Neonicotinoid insecticides, used in strawberry cultivation, act on the brain causing damage to the cognitive, olfactory and navigation systems related to flight and foraging behavior; as well as trizole fungicides that affect the metabolism and elimination of pesticides from the body, compromising the immune defense of bees. In view of the above, the general objectives of this thesis were to investigate the effects of the insecticide thiamethoxam (TMX) and the fungicide difenoconazole (DFC) on *Apis mellifera* bees in the laboratory and in a field experiment. The thesis is divided into four chapters: chapter one introduces the topics studied; chapter two refers to the systematic review of TMX and DFC and their effects on bees; chapter three consists of the laboratory and field experiments. In the laboratory, survival tests were carried out by contaminating the bees with TMX, DFC and a combination of the two products. Exposure was via ingestion of contaminated honey syrup, the treatments being: C - Ingestion control: honey syrup; TMX - Thiamethoxam insecticide: honey syrup containing 1.25 µg a.i./bee; DFC - Difenoconazole fungicide: honey syrup containing 125 µg a.i./bee; T+D - Association: mail syrup containing 1.25 µg a.i. of thiamethoxam plus 125 µg a.i. /bee, and via contact using a droplet (2 µL) of solution containing the pesticides diluted in distilled water (C - Contact control: distilled water; TMX - Thiamethoxam insecticide: 0.2 µg of i. a./µL; DFC contact - Fungicide Difenoconazole: 2.5 µg a.i./µL; T+D contact - Association: 0.2 µg a.i. of thiamethoxam plus 2.5 µg a.i./µL). The field stage consisted of eight experimental units in a protected environment, each equipped with an *A. mellifera* colony housed in Langstroth nucleus hives and ten pots of the San Andreas strawberry variety. The plants were sprayed with the leaflet dose of TMX and DFC, reduced to an area of 0.16 m², so the treatments used were: C - Control: plants sprayed with distilled water; S/A

- Without Bees (self-pollination): plants sprayed with distilled water; TMX - Thiamethoxam insecticide: 0.00075g of i.a. /m² diluted in distilled water; DFC - Fungicide Difenoconazole: 0.06 ml a.i./m² diluted in distilled water; T+D - Association: 0.00075g a.i. of thiamethoxam plus 0.06 ml a.i. of difenoconazole/m² diluted in distilled water. The population development of the colonies was analyzed over seven weeks and the daily mortality of the bees for 15 days after the application of the treatments, as well as the quantity, weight, length and diameter, titratable acidity, total soluble solids and PH of the fruit produced. Finally, chapter four contains the implications of the work. The survival tests in the laboratory showed that the pesticides, alone or in combination, are harmful and cause bee mortality in a short space of time, with the TMX and T+D treatments standing out as lethal doses, both for exposure via ingestion and contact. In the field, the parameters analyzed showed no significant differences between the control and the treatments.

Keywords: Agricultural production, Bees, *Fragaria x ananassa* Duch., Pesticides.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

## CAPÍTULO 3

Figura 1. Esquema ilustrando a ocorrência de cada um dos ensaios e destinação das colônias de abelhas e vasos de plantas que foram substituídos ao término de cada insaio..... 61
Figura 2. Número de abelhas mortas durante o período do experimento ao longo dos dias – exposição aos agrotóxicos via ingestão..... 67
Figura 3. Número de abelhas mortas durante o período do experimento ao longo dos dias – exposição aos agrotóxicos via contato..... 68
Figura 4. Unidade experimental da fase de laboratório: pote plástico com tampa perfurada contendo bebedouro confeccionado com tubos do tipo eppendorf..... 82
Figura 5. Gotícula de agrotóxico aplicada no tórax da abelha, região do pronoto, para realização da exposição das abelhas aos agrotóxicos via contato..... 82
Figura 6. Parcela experimental da fase de campo: unidade de ambiente protegido equipada de uma colônia de Apis mellifera alojada com núcleos do tipo Langstroth com coletores de abelhas mortas do tipo underbasket posicionados a frente dos alvados..... 83
Figura 7. Disttribuição dos dez vasos de morangueiro dentro da parcela experimental de ambiente protegido, equipados com irrigadores confeccionados com garrafas pet de 510 mL..... 83
Figura 8. Segundo alvado voltado para dentro da parcela experimental de ambiente protegido possibilitando a visitação das abelhas nas flores das plantas de morangueiro do experimento..... 84
Figura 9. (A) exemplo de morango considerado bem formado e (B) exemplo de morango deformado na classificação dos frutos produzidos..... 84

# LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO 2

Tabela 1. Selected articles…… 36
Tabela 2. Types of products and doses …….. 37

## CAPÍTULO 3

Tabela 1. Temperatura máxima, mínima e média mensais que ocorreram durante o período do experimento..... 63
Tabela 2. Quantidade consumida de xarope de mel adicionado dos agrotóxicos em comparação com o consumo de xarope de mel oferecido para o grupo controle..... 66
Tabela 3. Médias da área de cria fechada (cm²) e mortalidade diária de abelhas das colônias que tiveram contato com plantas tratadas com agrotóxicos. Os resultados representam as médias e respectivos desvio-padrão..... 68
Tabela 4. Resultados das análises realizadas para avaliar a produção e qualidade de morangos produzidos durante o experimento..... 69
Tabela 5. Médias das quantidades de flores abortadas por tratamento. Os resultados representam as médias e respectivos desvio-padrão..... 70

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|---|---|
| TMX | Inseticida tiametoxam |
| DFC | Fungicida difenoconazol |
| T+D | Associação do tiametoxam e difenoconazol |
| CAR | Fungicida carbendazol |
| CBZ | Fungicida carbedazim |
| GFT | Herbicida glifosato |
| i.a. | Ingrediente ativo |
| mol | Unidade de medida de átomos ou moléculas |
| G | Grama |
| ng | Nanograma |
| µg | Micrograma |
| L | Litro |
| mL | Mililitro |
| µL | Microlitro |
| mm | Milimetro |
| cm | Centímetro |
| $cm^2$ | Contimetro quadrado |
| $m^2$ | Metros quadrados |
| % | Por cento |
| SNC | Sistema nervoso central |
| ATP | Adenosina trifosfato |
| G6PDH | Desidrogenase de glicose-6-fosfato |
| GA3PDH | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase |
| ACh | Acetilcolina |
| AChE | Acetilcolinesterase |
| CaE3 | Carboxylesterase |
| GST | Glutationa S transferase |
| GPX | Glutationa peroxidase |
| SOD | Superoxido dismutase |
| CAT | Catalase |
| ROS | Espécie reativo ao oxigênio |
| CYP450 | Citrocromo P-450 |
| mRNA | RNA mensageiro |
| REP | Reflexo de extensão da probócide |

## SUMÁRIO

**CAPÍTULO 1**

1. Considerações iniciais..... 16
2. Objetivos gerais ..... 20

Referências bibliográficas..... 21

**CAPÍTULO 2. A systematic review on the effects of the insecticide Thiamethoxam and the fungicide Difenoconazole on the health of bees *A. mellifera* L.**

Resumo..... 29
Abstract..... 30
Resumen..... 30
1. Introduction..... 31
2. Material and methods..... 33
3. Results..... 34
4. Discussion..... 38
5. Conclusion..... 46
References..... 46

**CAPÍTULO 3. Efeito do tiametoxam e difenoconazol em abelhas *Apis mellifera* e produtividade da cultura do morangueiro por meio da polinização dirigida**

Resumo..... 52
Abstract..... 54
1. Introducão ..... 56
2. Material e métodos..... 58
3. Resultados..... 66
4. Discussão..... 70
5. Conclusão..... 74
Declaração de conflitos de interesse..... 74
Agradecimentos..... 74
Referências bibliográficas..... 75
Anexos..... 82
Dados Curriculares..... 85

**CAPÍTULO 4.** Implicações..... 90

# CAPÍTULO 1

## Considerações Iniciais

A apicultura racional é uma atividade agropecuária que depende do ambiente para a produção de mel e demais produtos apícolas; a conservação ambiental contribui para a manutenção da flora apícola que fornece néctar e pólen para as abelhas. A apicultura pode ser desenvolvida como atividade principal na propriedade rural, gerando emprego e renda aos produtores. O mercado dos produtos apícolas (própolis, pólen, geleia real, cera e apitoxina) possui grande potencial de crescimento tanto para o consumo interno, como para exportação visto que, em 2022, o Brasil produziu 36.886 toneladas de mel destinadas á exportação (MAPA, 2024) para países como Canadá, Reino Unido, Alemanha e Bélgica, sendo que o maior comprador são os Estados Unidos que consomem aproximadamente 80% da produção de mel brasileira (MAPA, 2024).

O mel, principal produto apícola, é produzido a partir do néctar das flores coletado pelas abelhas forrageiras que saem da colmeia em busca de recursos alimentares, que são atraídas pelas plantas angiospermas por meio da beleza, formato e aromas das flores que contém néctar, fonte de energia e pólen que é o alimento proteico para as abelhas.

Durante a visita nas flores entram em contato com as anteras produtoras de pólen que grudam nos pelos das abelhas sendo transportados para outras flores, no voo de flor em flor as forrageiras depositam o pólen nos estigmas, estruturas femininas das flores, realizando a fecundação cruzada (MALERBO-SOUZA *et al.*, 2009).

Essa contribuição, realizada de forma não intencional, é fundamental para a troca de informações genéticas das plantas, favorecendo a variabilidade genética e a biodiversidade (ROUBIK, 2018). As abelhas *Apis mellifera* são utilizadas para a polinização assistida de culturas agrícolas devido ao seu fácil manejo, colônias populosas, adaptação em diferentes ecossistemas, perfil generalista na busca de recursos e por possuir estruturas morfológicas, como vesícula nectarífera, pelos e corbículas, para o transporte de néctar e pólen (PIRES *et al*., 2016).

As abelhas são consideradas importantes polinizadores das culturas agrícolas, visitando cerca de 75% dos cultivos agrícolas (KLEIN *et al*., 2007), aumentando a produção e produtividade (ROUBIK, 2018). Dentre as culturas beneficiadas pela

polinização das abelhas tem-se a cultura do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.), pertencente ao gênero *Fragaria* e família Rosaceae. No morangueiro o pólen é o recurso mais abundante, no entanto suas flores também fornecem para as abelhas néctar.

Após a fecundação das flores, o morango se desenvolve a partir do receptáculo floral, que acumula açúcar e vitaminas, amadurecendo e se assemelhando a uma "fruta" verdadeira, embora seja um pseudofruto (ABROL *et al*., 2019). Os verdadeiros frutos são conhecidos como aquênios que estão localizados na superfície da polpa, se assemelham a pequenas sementes, e quando fertilizados estimulam o desenvolvimento do receptáculo formando a polpa vermelha do morango (MALAGODI-BRAGA, 2018).

Suas flores são hermafroditas e possuem capacidade de autofecundação (ALBANO *et al*., 2009); no entanto para uma frutificação adequada dos morangos, cerca de 70% a 80% dos pistilos (parte feminina) devem ser fecundados (ABROL *et al*., 2019), sendo assim, a contribuição das abelhas é importante para a ocorrência da polinização cruzada que aumenta o número de aquênios fertilizados em até 62% (CAREW *et al*., 2003).

As abelhas sem ferrão, em especial a jataí *(Tetragonisca angustula)* são consideradas as polinizadoras mais eficientes na cultura do morangueiro; no entanto, há preocupação crescente com a diminuição da diversidade de polinizadores, motivando a investigação de espécies que visitam as flores do morangueiro aumentando a produção e qualidade dos frutos (DORJI *et al*., 2023). Estudos de observação dos visitantes florais constataram que a *A. mellifera* foi a abelha mais abundante e frequente nas flores de morangueiro (CHAVES *et al*., 2017, PIOVESAN *et al*., 2019), indicando esta espécie como potencial polinizador.

Em testes de contagem de aquênios fecundados, a *A. mellifera* foi a abelha mais eficiente na polinização das flores de morangueiro, fertilizando mais aquênios em uma só visita, quando comparada com *Plebeia spp. e Dialictus spp*; sendo os números de aquênios viáveis respectivamente, 141,6, 94,9 e 82,4 (SCHEID *et al*., 2020). Comparando áreas com diferentes agentes polinizadores, a parcela polinizada com abelhas *A. mellifera* obteve produção de frutos 18% maior do que a parcela controle, com polinização livre (HOUBARERT *et al.*, 1992), mostrando que essa espécie é também um bom polinizador

do morangueiro; além disso, o florescimento do morangueiro ocorre durante o dia, período em que as abelhas *A. mellifera* estão ativas no campo (PIOVESAN *et al.*, 2019).

No momento do forrageamento os polinizadores sofrem influência de fatores antrópicos como mudanças climáticas e uso dos agrotóxicos, que são apontados como algumas das causas da eliminação de colônias de abelhas sem ferrão e *A. mellifera* (PIRES; TOREZANI 2018; KEVAN, 2018). As abelhas são insetos não alvo dos agrotóxicos, mas estão susceptíveis à contaminação no campo (LIMA; ROCHA, 2012) pelo contato com resíduos depositados em folhas e flores, ingestão de pólen e néctar contaminados e partículas suspensas no ar no momento da aplicação nas lavouras (TOSI *et al*., 2018), principalmente em culturas agrícolas que fornecem néctar e pólen para as abelhas, como por exemplo as flores de morangueiro.

A planta de morangueiro é sensível a doenças e pragas e requer a aplicação de agrotóxicos nos cuidados fitossanitários (SIVITER *et al*., 2018). A exposição de abelhas a esses agrotóxicos pode causar efeitos letais e subletais, como desorientação no voo de forrageamento (CORREIA-OLIVEIRA *et al*., 2012) e prejuízo do aprendizado olfativo e a retenção de memória (LI *et al*., 2017) dificultando a localização da fonte de alimento e da colmeia ao retornar, impactando a coleta de néctar e pólen, podendo reduzir o estoque de alimento para a colônia, comprometendo a postura da rainha e sobrevivência da colônia (WU-SMART; SPIVAK, 2016).

Esses efeitos subletais não provocam a mortalidade em massa, mas depreciam a saúde das abelhas operárias, assim como da rainha que pode sofrer prejuízos no desenvolvimento do sistema reprodutor (WILLIAMS *et al*., 2015). A redução do tempo de vida, atraso do desenvolvimento larval e nascimento de abelhas deficientes (BERNARDES *et al*., 2018) são outros efeitos da contaminação das abelhas por agrotóxicos. Estes efeitos comprometedores da saúde e comportamento das abelhas podem diminuir a eficiência da polinização (STANLEY *et al*., 2015).

O cultivo agrícola convencional no Brasil é baseado no uso intensivo de agrotóxicos (PIRES; TOREZANI, 2018), desfavorecendo as populações dos polinizadores. Dentre os agrotóxicos utilizados na defesa da planta de morangueiro, o inseticida tiametoxam com ação neuro tóxica, é pertencente ao grupo químico dos

neonicotinóides e age como agonista do neurotransmissor acetilcolina (ACh), ligando-se aos receptores nicotínicos de ACh na membrana pós-sináptica (BRUNET; BADIOU; BELZUNCES, 2005), causando hiperexitação do sistema nervoso, agitação, paralisia e morte do inseto (BASS; FIELD, 2018).

O tiametoxam, nas doses de 0,1 e 1,0 g i.a./L, causou elevada mortalidade de abelhas Uruçu capixaba *(Melipona capixaba)* e *A. mellifera* expostas oralmente, além de alterar a capacidade de voo de *M. capixaba* quando exposto à dose mais baixa, 0,1 g i.a./L, na exposição via de contato (GOMES *et al*., 2023). Em experimento à campo, o tiametoxam também causou maior mortalidade das *A. mellifera*, de forma significativa, quando pulverizado na cultura de mostarda (*Brassica juncea*) (31 abelhas/dia), mortalidade seis vezes maior do que o grupo controle (5 abelhas/dia), sendo que nos dois primeiros dias após a pulverização a mortalidade foi significativamente maior que nos dias subsequentes, persitindo por sete dias (NEGI *et al*., 2022).

Já o fungicida difenoconazol, que também é aplicado na cultura do morangueiro, atua inibindo a ação da CYP450 (14α-esterol desmetilase), enzima que nas abelhas age no sistema de disentoxicação, participando no processo de metabolismo e eliminação de agrotóxicos e xenobióticos do organismo (GOTTARDI *et al*., 2018). Apesar de ser classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como pouco tóxico, faixa azul, estudos mostram que o difenoconazol pode provocar a morte das abelhas em altas concentrações (doses letais) e com doses subletais este agrotóxico pode afetar o sistema imunológico das abelhas *A. mellifera*, tornando-as mais susceptíveis a doenças (BRANDT *et al*., 2016); também prejudica a capacidade de navegação tão importante para o voo de forrageamento e comunicação relacionada com a organização da colônia e pode comprometer o desenvolvimento larval e o nascimento de novo indivíduos saudáveis na colônia (ALMASRI *et al*., 2021). Os efeitos crônicos da contaminação por difenoconazol, acumulativos a longo prazo, são mais difíceis de serem percebidos pelos apicultores, podendo atingir toda a colônia (LEITE *et al*., 2018).

A combinação de difenoconazol com outros agrotóxicos e aditivos também é preocupante porque essa associação potencializa a ação do fungicida, aumentando a sua toxicidade para as abelhas (VAN DYKE *et al*., 2018), como constatado no estudo

combinando difenoconazol e o piretróide lambda-cialotrina (THOMPSON; WILKINS 2003). Da mesma forma, a combinação com óleo mineral, um adjuvante inerte comumente adicionado a fungicidas para proporcionar melhor ação e penetração nas plantas; quando misturado ao fungicida difenoconazol, aumentou a mortalidade de abelhas em 50% (LEITE *et al*., 2018).

Um outro desafio enfrentado pelos agricultores é conciliar o cultivo protegido e o acesso dos polinizadores á cultura. O cultivo em ambiente protegido ofereceproteção da cultura contra pragas e doenças, por meio de um sistema fechado e controlado (MUIJZENBERG, 1980); no entanto, impede a visitação dos polinizadores, prejudicando a fecundação cruzada das flores.

Cerca de 40% da produção agrícola em ambientes protegidos necessita de polinizadores, em especial das abelhas, que têm dificuldades em se adaptarem em ambientes fechados, principalmente pelo estresse térmico, comprometendo o desenvolvimento populacional das colônias que normalmente declina rapidamente (SGANZERLA, 1995; GUERRA-SANZ, 2003; ABROL, 2012).

As monoculturas cultivadas dentro de ambientes protegidos podem oferecer uma quantidade limitada de recursos alimentares provocando deficiência nutricional nas abelhas (NAUG, 2009; NICODEMO *et al*., 2018). Para solucionar esse entrave, uma alternativa é a colmeia com dois alvados, permitindo o acesso das abelhas para dentro e para fora do ambiente protegido, permitindo o manejo dos dois alvados de forma que as abelhas forrageiras possam complementar as necessidades nutricionais da colônia coletando néctar e pólen das plantas silvestres e facilitando os tratos culturais da lavoura direcionando as abelhas para o meio externo (NICODEMO *et al*., 2018).

Assim os objetivos do presente estudo são:

- Avaliar a sobrevivência das abelhas expostas ao inseticida tiametoxam e fungicida difenoconazol, isolados e associados, em laboratório, por meio de exposição por ingestão e contato;
- Quantificar o consumo de xarope contaminado no teste de sobrevivência com exposição por ingestão;

- Avaliar o efeito da pulverização direcionada de agrotóxico (inseticida tiametoxam e fungicida difenoconazol, isolados e associados) nas plantas de *Fragaria x ananassa* Duch. sobre o desenvolvimento populacional e mortalidade de abelhas em colônias de *A. mellifera* africanizada;
- Comparar a produção e qualidade de frutos de plantas polinizadas por abelhas e autopolinização.

O presente estudo resultou nos capítulos II e III que darão origem à dois artigos científicos:

- "Revisão sistemática sobre os efeitos do inseticida Tiametoxam e do fungicida Difenoconazol na saúde de abelhas *Apis mellifera*", que foi publicado no periódico "Observatório De La Economía Latinoamericana" com Qualis CAPES A4; disponível em DOI: https://doi.org/10.55905/oelv23n1-096

- "Efeito do tiametoxam e difenoconazol na saúde de abelhas *Apis mellifera* e produtividade da cultura do morangueiro por meio da polinização dirigida" que será submetido ao periódico "Agriculture, Ecosystems & Environment".

**Referências bibliográficas**

ABROL, D. P. Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production. New York: Springer, 2012, 792 p.

ABROL, P. D.; ANSARI, J. M.; GHAMDI, A. A.; GORKA, K. A.; KAHTANI, A. S. Impact of insect pollinators on yield and fruit quality of strawberry. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 26, n. 3, p. 524-530, 2019. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.08.003

ALBANO, S.; SALVADO, E.; DUARTE, S.; MEXIA, A.; BORGES, P. A. V. Pollination effectiveness of different floral visitors of strawberry in Ribatejo, Portugal: selection of potential pollinators. Part 2. Advances in Horticultural Science, v. 23, n. 4, p. 246-253, 2009.

ALMASRI, H.; TAVARES, D.A.; TCHAMITCHIAN, S.; PÉLISSIER, M.; SENÉ, D.; COUSIN, M.; BRUNET, J. L.; BELZUNCES, L. P. Toxicological status changes the susceptibility of the honey bee *Apis mellifera* to a single fungicidal spray application. Environmental Science and Pollution Research, v. 28, n. 31, p. 42807-42820, 2021. doi: 10.1007/s11356-021-13747-3.

BASS, C.; FIELD, L. M. Neonicotinoids. Current biology, v. 28, n. 14, p. R772-R773, 2018.

BERNARDES, R. C.; BARBOSA, W. F.; MARTINS, G. F.; LIMA, M. A. P. The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological threat to queens of the stingless bees Partamona helleri (Friese, 1900), Chemosphere, v. 201, p. 550-556, 2018. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.030

BRANDT, A.; GORENFLO, A.; SIEDE, R.; MEIXNER, M.; BÜCHLER, R. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*A. mellifera* L.). Journal of Insect Physiology, v. 86, p. 40–47, 2016. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.01.001

BRUNET, J. L.; BADIOU, A.; BELZUNCES, L. P. In vivo metabolic fate of [C-14] acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *A. mellifera* L. Pest Management Science, Chichester, v. 61, n. 8, p. 742-748, 2005. https://doi.org/10.1002/ps.1046

CAREW, J. G.; MORRETINI, M.; BATTEY, N. H. Misshapen fruits in strawberry. Small fruits review, v.2, n. 2, p. 37–50, 2003. https://doi.org/10.1300/J301v02n02_03

CHAVES, V. C.; CALVETE, E.; REGINATTO, F. H. Quality properties and antioxidant activity of seven strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars. Scientia Horticulturae, v. 225, p. 293-298, 2017. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.013

CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; POWERFUL, J. C. M.; FERREIRA, A. F.; DE OLINDA, R. A.; RIBEIRO, G. T. Impact of aqueous plant extracts on *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae). Sociobiology, v. 59, n. 3, p. 849-858, 2012. https://doi.org/10.13102/sociobiology.v59i3.552

DORJI, P.; TASHI, S.; DORJI, U.; TSHERING, K.; TSHOMO, U.; GYELTSHEN, T. Diversity of Pollinator Species and Effect of Pollination on Strawberry Yield and

Quality. Journal of Agricultural Sciences (Sri Lanka), v. 18, n. 3, 2023. https://doi.org/10.4038/jas.v18i3.10055

GOMES, I. N.; GONTIJO, L. M.; LIMA, M. A. P.; ZANUNCIO JR, J. S.; RESENDE, H. C. The survival and flight capacity of commercial honeybees and endangered stingless bees are impaired by common agrochemicals. Ecotoxicology, v. 32, n. 7, p. 937-947, 2023. https://doi.org/10.1007/s10646-023-02699-8

GOTTARDI, M.; TYZACK, J. D.; BENDER, A.; CEDERGREEN, N. Can the inhibition of cytochrome P450 in aquatic invertebrates due to azole fungicides be estimated with in silico and in vitro models and extrapolated between species? Aquatic Toxicology, v. 201, p. 11-20, 2018. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.05.017

GUERRA-SANZ, J. M. Crop pollination in greenhouses. Bee pollination in agricultural ecosystems. Oxford: Oxford University Press, 2008, p. 27-47.

HOUBAERT, D.; BORREMANS, G.; BAETC, W.; JACOBS, F. J. Quality improvement of strawberries through optimal pollination. Fruitteelt, v. 5, n. 20, p. 26-29, 1992.

KEVAN, P. K. Conserving pollinators for agriculture, forestry and nature. In: The Pollination of Cultivated Plants, v. 1. FAO Roma, 2018. p. 29-33.

KLEIN, A. M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. 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. https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721

LEITE, D. T.; SAMPAIO, R. B.; DOS SANTOS, C. O.; DOS SANTOS, J. N.; CHAMBÓ, E. D.; DE CARVALHO, C. A. L.; SODRÉ, G. DA S. Toxicity of fenpyroximate, difenoconazole and mineral oil on *A. mellifera* L. Introduction. Sociobiology, v. 65, n. 4, p. 737-743, 2018. https://doi.org/10.13102/sociobiology.v65i4.3416

LI, H.; TAN, J.; SONG, X.; Wu, F.; Tang, M.; HUA, Q.; ZHENG, H.; HU, F. Sublethal doses of the neonicotinoid imidacloprid can interact with bee chemosensory protein 1 (CSP1) and inhibit its function. Biochemical and biophysical research communications, v. 486, n. 2, p. 391-397, 2017. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.03.051

LIMA, M. C.; ROCHA, A. S. Effects of pesticides on wild bees in Brazil: methodological proposal for monitoring. Ibama, Brasília, 2012, 88p.

MALAGODI-BRAGA, K.S. Pollination as a production factor in strawberry cultivation. Technical Communication, v. 56, 2018. Disponível em: ISSN 1516-8638

MALERBO-SOUZA, D. T.; HALAK, A. L. Floral visitors on okra flowers (*Abelmoschus esculentus* – Malvaceae). Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB, Jaboticabal/SP, p. 63, 2009.

MAPA. Agrostat 2024. Disponível em: https://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html. Acesso em: 05 de outubro de 2024.

MUIJZENBERG, E. W. B.; VAN DEN. A history of greenhouses. Wageningen: Institute of Agricultural Engineering, 1980, 435 p.

NAUG, D. Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses. Biological Conservation, v. 142, n. 10, p. 2369-2372, 2009. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.04.007

NEGI, B. R.; SHARMA, H. K.; THAKUR, M.; PRASHAD, H. Lethal and sublethal effects of thiamethoxam, a neonicotinoid molecule, on colony performance of *A. mellifera*. Environmental Science and Pollution Research, v. 29, n. 7, p. 10826-10837, 2022. https://doi.org/10.1007/s11356-021-16426-5

NICODEMO, D.; MALHEIROS, E. B.; DE JONG, D.; COUTO, R. H. N. Improved pollination efficiency and reduced honey bee colony decline in greenhouses by allowing access to the outside during part of the day. Sociobiology, v. 65, n. 4, p. 714-721, 2018. https://doi.org/10.13102/sociobiology.v65i4.3455

PIOVESAN, B; PADILHA, A. C.; BOTTON, M; ZOTTI, M. J. Entomofauna and potential pollinators of strawberry crop under semi-hydroponic conditions. Brazilian Horticulture, v. 37, n. 3, p. 324-330, 2019. https://doi.org/10.1590/S0102-053620190311

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Weakening and loss of bee colonies in Brazil: are there cases of CCD? Brazilian Agricultural Research, v. 51, n. 5, p. 422–442, 2016. https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500003

PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. R. S. Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos. Ibama ed. Brasília: DF. 2018.

ROUBIK, D. W.; HEARD, T. A.; KWAPONG, P. Stingless bee colonies and pollination. The pollination of cultivated plants: A compendium for practitioners, v. 2, p. 39-64, 2018.

SCHEID, L.; MARTARELLO, N. S.; HOLDEFER, D. R.; GRUCHOWSKI-WOITOWICZ, F. C. Eficácia de abelhas na polinização de cultivares de morango no sul do Brasil. Luminária, v. 22, n. 02, 2020. https://doi.org/10.33871/23594373.2020.22.02.3530

SGANZERLA, E. New agriculture: a fascinating art of cultivating with plastics. Guaíba: Agropecuária, 1995, 347 p.

SIVITER, H.; KORICHEVA, J.; BROWN, M. J. F.; LEADBEATER, E. Quantifying the impact of pesticides on bee learning and memory. Journal of Applied Ecology, v. 55, n. 6, p. 2812-2821, 2018. https://doi.org/10.1111/1365-2664.13193

STANLEY, D. A.; GARRATT, M. P. D.; WICKENS, J. B.; WICKENS, V. J.; POTTS, S. G.; RAINE, N. E. Exposure to neonicotinoid pesticides harms crop pollination services provided by bees. Nature, v. 528, p. 548-550, 2015. https://doi.org/10.1038/nature16167

THOMPSON, H.; WILKINS, S. Assessment of the synergy and repellency of pyrethroid/fungicide mixtures. Bulletin of Insectology, v. 56, n. 1, p. 131-134, 2003.

TOSI, S.; COSTA, C.; VESCO, U.; QUAGLIA, G.; GUIDO, G. A 3-year survey of pollen collected by Italian bees reveals widespread contamination by agricultural pesticides. Science of the total environment, v. 615, p. 208–218, 2018. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.226

VAN DYKE, M.; MULLEN, E.; WIXTED, D.; MCART, S. A pesticide decision-making guide to protect pollinators in tree fruit orchards. Cornell University, New York, 2018.

WILLIAMS, G. R.; TROXLER, A.; RETSCHNIG, G.; ROTH, K.; YAÑEZ, O.; SHUTLER, D.; NEUMANN, P.; GAUTHIER, L. Neonicotinoid pesticides severely affect bee queens. Scientific reports, v. 5, n. 1, p. 14621, 2015. https://doi.org/10.1038/srep14621

WU-SMART, J.; SPIVAK, M. Sublethal effects of dietary exposure to neonicotinoid insecticides on bee queen fecundity and colony development. Scientific reports, v. 6, n. 1, p. 32108, 2016.