

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA NUTRIÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE  
COLÔNIAS DE ABELHAS MELÍFERAS UTILIZADAS PARA  
POLINIZAÇÃO DE PLANTAS DE SOJA TRATADAS COM  
FUNGICIDA À BASE DE BIXAFEM, PROTIOCONAZOL E  
TRIFLOXISTROBINA**

**Matheus Franco Trivellato**  
Engenheiro Agrônomo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA NUTRIÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE  
COLÔNIAS DE ABELHAS MELÍFERAS UTILIZADAS PARA  
POLINIZAÇÃO DE PLANTAS DE SOJA TRATADAS COM  
FUNGICIDA À BASE DE BIXAFEM, PROTIOCONAZOL E  
TRIFLOXISTROBINA**

**Discente: Matheus Franco Trivellato**

**Orientador: Prof. Dr. Daniel Nicodemo**

**Dissertação apresentada à Faculdade  
de Ciências Agrárias e Veterinárias –  
Unesp, Campus de Jaboticabal, como  
parte das exigências para a obtenção  
do título de Mestre em Ciência Animal.**

Trivellato, Matheus Franco

T841e Efeito da nutrição no desenvolvimento de colônias de abelhas melíferas utilizadas para polinização de plantas de soja tratadas com fungicida à base de bixafem, protioconazol e trifloxistrobina / Matheus Franco Trivellato. -- Jaboticabal, 2025  
64 p.: tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Daniel Nicodemo

1. *Apis mellifera*. 2. Comportamento higiênico. 3. Produção agrícola.  
4. Suplementação alimentar. 5. *Varroa destructor*. I. Título.

## **Impacto potencial desta pesquisa**

O estudo destaca a importância do manejo nutricional das abelhas para melhorar a eficiência na polinização e aumentar a produtividade agrícola, especialmente na soja. A pesquisa sugere que, com práticas adequadas, o uso de fungicidas não compromete a produção, promovendo uma agricultura mais sustentável e eficiente.

## **Potential impact of this research**

The study highlights the importance of nutritional management of bees to improve pollination efficiency and increase agricultural productivity, especially in soybeans. The research suggests that, with appropriate practices, the use of fungicides does not compromise production, promoting more sustainable and efficient agriculture.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA NUTRIÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE COLÔNIAS DE ABELHAS MELÍFERAS UTILIZADAS PARA POLINIZAÇÃO DE PLANTAS DE SOJA TRATADAS COM FUNGICIDA À BASE DE BIXAFEM, PROTIOCONAZOL E TRIFLOXISTROBINA

**AUTOR: MATHEUS FRANCO TRIVELLATO**


**ORIENTADOR: DANIEL NICODEMO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. DANIEL NICODEMO (Participação Virtual)  
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente  
 **DANIEL NICODEMO**  
Data: 25/02/2025 12:23:40-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Ass.Dr. SAMIR MOURA KADRI (Participação Virtual)  
Departamento de Produção Animal / FCAT UNESP Dracena

Documento assinado digitalmente  
 **SAMIR MOURA KADRI**  
Data: 25/02/2025 16:44:20-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. DAVID DE JONG (Participação Virtual)  
Departamento de Genética / FMRP USP Ribeirão Preto/SP

Documento assinado digitalmente  
 **DAVID DE JONG**  
Data: 25/02/2025 20:16:38-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 25 de fevereiro de 2025

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MATHEUS FRANCO TRIVELLATO** – nascido em 16 de setembro de 1990, em Araçatuba – São Paulo, é graduado em Engenharia Agrônoma pela Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Campus Luiz Meneghel, concluído em 2014. Durante a graduação, realizou seu Trabalho de Conclusão de Curso com foco na otimização da coleta de pólen de colônias de abelhas melíferas. Após a graduação, atuou como estagiário na empresa UNISAFE, desenvolvendo atividades de manejo em sistemas agrossilvipastoril, análises laboratoriais de amostras de solo e elaborando projetos de uso e ocupação de áreas agrícolas. Posteriormente, se especializou em Gestão de Negócios pela Fundação Getúlio Vargas (FGV), com ênfase no mercado pet, e gerenciou uma clínica veterinária e serviços de banho e tosa. Em 2022, ingressou no Programa de Mestrado em Ciência Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal, com ênfase em Nutrição Animal, sendo orientado pelo Prof. Dr. Daniel Nicodemo. Durante sua trajetória acadêmica, desenvolveu interesse e se especializou em apicultura e meliponicultura, participando de diversos cursos na área e atuando de forma extensionista junto a pequenos e grandes produtores. Atualmente, é membro do Núcleo de Operações Sustentáveis, no qual desenvolve pesquisas sobre nutrição, polinização, saúde e imunidade de abelhas, buscando integrar práticas sustentáveis ao meio agrícola e às abelhas.

*“Tudo que somos é, em grande parte,  
resultado das pessoas que nos amam e  
das batalhas que escolhemos enfrentar”*

Victor Hugo

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, com todo meu coração, à minha esposa Julia Andre Carriel e aos meus filhos Manoel e Laura, que estiveram ao meu lado com amor, alegria e carinho. Vocês foram a fonte de descontração e acolhimento, trazendo equilíbrio aos momentos de desafios e me oferecendo apoio incondicional em todos os momentos dessa jornada.

Dedico também aos meus pais, Regina Célia Franco Trivellato e Fernando Antônio de Assis Trivellato (*in memoriam*), que sempre me ensinaram a valorizar cada oportunidade e a persistir, com coragem, na busca por meus objetivos. A cada passo que dou, sinto sua presença e seus ensinamentos, que continuam a me guiar.

Aos meus sogros, Sérgio Roberto Carriel e Lara Regina Nocentine Andre, que se tornaram uma verdadeira rede de apoio e incentivo. O suporte que vocês me deram foi fundamental em cada etapa dessa jornada, e sou imensamente grato por tudo.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus, por me conceder saúde, força e sabedoria ao longo dessa caminhada. A Ele, por colocar as pessoas certas em meu caminho, que me ajudaram a alcançar este objetivo e a crescer a cada desafio enfrentado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Daniel Nicodemo, expressei minha mais profunda gratidão pela confiança que depositou em mim. Sua orientação não se limitou a aspectos técnicos; você foi fundamental em minha formação acadêmica e pessoal, sempre com paciência, dedicação e generosidade. Obrigado pelas valiosas sugestões e ensinamentos, que me permitiram não apenas concluir esta dissertação, mas também evoluir como profissional.

Aos membros do Núcleo de Organização Sustentável (NOS), especialmente a Aline Yukari Kato, a Cássia Regina de Avelar Gomes e a Yara Martins Molina Ferraz. Agradeço pelo companheirismo, apoio e pelos aprendizados compartilhados ao longo do mestrado; vocês foram essenciais para meu desenvolvimento e enriqueceram minha experiência.

À equipe da Fazenda da FCAT, composta por Alan Roger Cenerine Carvalho, Arnaldo Carneiro da Silva, Fábio Ribeiro da Silva, José Oscar Martins Gomes, Marcio Hideki Takaki, Marcos Adriano de Andrade Balderramas e Rodrigo de Souza Ferreira, meu muito obrigado. Cada um de vocês, com sua dedicação e profissionalismo, fez a diferença durante as atividades do experimento. Vocês transformaram momentos de desafios em oportunidades de crescimento e aprendizado.

À FCAV – Unesp Jaboticabal, pelo excelente programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, que contribuiu para minha formação acadêmica e profissional. Agradeço também à FCAT – Unesp Dracena, por todo o suporte e infraestrutura oferecidos, e por ser um ambiente acolhedor, que sempre zelou pelo bem-estar de seus alunos.

Por fim, à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudos, que foi imprescindível para a realização deste trabalho.

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

## SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1.1 Biologia das abelhas melíferas .....	1
1.2 Nutrição das colônias de abelhas melíferas.....	3
1.3 Importância da polinização para as culturas agrícolas.....	5
1.4 Impactos da <i>Varroa destructor</i> no desenvolvimento das abelhas melíferas .....	7
1.5 Comportamento higiênico das abelhas melíferas .....	7
1.6 Relevância da cultura da soja .....	9
1.7 Efeitos dos fungicidas na agricultura.....	11
1.7.1 Fungicida bixafem.....	13
1.7.2 Fungicida trifloxistrobina .....	14
1.7.3 Fungicida prothioconazol .....	15
Referências .....	17
CAPÍTULO 2 - Impacto do status nutricional e exposição a fungicida em colônias de abelhas melíferas utilizadas para polinizar soja .....	26
CHAPTER 2 - Impact of nutritional status and fungicide exposure on honey bee colonies used for soybean pollination.....	27
2.1 Introdução .....	28
2.2 Material e métodos.....	29
2.2.1 Local e período do experimento.....	29
2.2.2 Abelhas e sua alimentação.....	30
2.2.3 Registro do peso das colônias de <i>Apis mellifera</i> .....	33
2.2.4 Desenvolvimento populacional por meio do mapeamento dos quadros das colônias de abelhas melíferas .....	34
2.2.5 Determinação dos níveis de infestação de abelhas adultas com <i>Varroa destructor</i> .....	35
2.2.6 Avaliação do comportamento higiênico nas colônias de abelhas melíferas .....	37
2.2.7 Ensaio de polinização da cultura da soja com abelhas melíferas .....	37
2.2.8 Produção de grãos de soja .....	40
2.2.9 Análises estatísticas .....	40
2.3 Resultados .....	41
2.3.1 Peso das colônias.....	41
2.3.2 Evolução da área de cria e alimento das colônias de abelhas melíferas...	44

2.3.3 Infestação das colônias com o ácaro <i>Varroa destructor</i> .....	46
2.3.4 Comportamento higiênico das colônias de abelhas melíferas .....	47
2.3.5 Avaliação da produção da soja .....	51
2.4 Discussão .....	53
2.4.1 Peso das colônias: efeito do manejo alimentar e exposição ao fungicida Fox Xpro®.....	53
2.4.2 Efeito do manejo nutricional nas áreas com alimento e cria das colônias de abelhas melíferas dos grupos CSA e CRA .....	54
2.4.3 Influência dos manejos e aplicação do fungicida Fox Xpro® na taxa de infestação de <i>Varroa destructor</i> .....	56
2.4.4 Avaliação do comportamento higiênico .....	58
2.4.5 Produção de grãos de soja .....	59
2.5 Conclusão .....	61
Referências .....	61

**EFEITO DA NUTRIÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE COLÔNIAS DE ABELHAS  
MELÍFERAS UTILIZADAS PARA POLINIZAÇÃO DE PLANTAS DE SOJA  
TRATADAS COM FUNGICIDA À BASE DE BIXAFEM, PROTIOCONAZOL E  
TRIFLOXISTROBINA**

**RESUMO** - O serviço de polinização desempenhado pelas abelhas *Apis mellifera* é influenciado por fatores externos, como a disponibilidade de recursos alimentares e a exposição a agrotóxicos, os quais podem comprometer o desenvolvimento das colônias. Este estudo investigou o impacto do manejo nutricional em colônias de abelhas melíferas na polinização e, conseqüentemente, na produção de grãos de soja de plantas tratadas com fungicida comercial que contém os princípios ativos bixafem, protioconazol e trifloxistrobina. Seis colônias receberam suplementação alimentar, com xarope energético e bife proteico, enquanto outras seis tiveram a alimentação restrita por meio do uso de coletores de pólen, durante 07 semanas. Em seguida, as colônias foram levadas para uma área de cultivo de soja da cultivar Pioneer 95Y95IPRO, em estágio de R2, momento de plena floração. Cada colônia foi instalada numa gaiola de 24 m<sup>2</sup>, com aplicação ou não do fungicida. Após 3 semana, no final da floração, as colônias foram retiradas das gaiolas e levadas de volta para o apiário, e feita avaliações do peso, mapeamento, índice de *Varroa destructor* e comportamento higiênico para compreender o impacto no desenvolvimento das colônias, por mais seis semanas. A produção de soja foi avaliada em gaiolas com e sem abelhas e em áreas de livre visitação de insetos, submetidas ou não ao fungicida. Os resultados mostraram que o manejo nutricional do grupo das colônias com suplementa o alimentar (CSA) resultou em aumento gradual do peso das colônias, enquanto o grupo das colônias com restri o alimentar (CRA) mantiveram o peso constante. A aplica o do fungicida Fox Xpro  nas plantas de soja reduziu o peso das colônias, mas não houve diferenças significativas no peso das colônias após a retirada das gaiolas de poliniza o. A produ o de soja foi superior nas parcelas polinizadas com abelhas melíferas, mas o fungicida não teve impacto significativo na produ o de gr os. A infesta o por *Varroa destructor* e o comportamento higiênico das colônias não foram afetados significativamente pelos tratamentos. Conclui-se que a suplementa o nutricional de abelhas melíferas melhora o desenvolvimento das colônias, potencializando a eficiência do serviço de poliniza o e contribuindo para o aumento da produtividade agrícola. Essa abordagem se destaca como uma estratégia promissora para otimizar a produ o de soja, promovendo a sustentabilidade da apicultura e a eficiência agrícola, sem comprometer os resultados com o uso de fungicidas.

**Palavras-chave:** *Apis mellifera*, comportamento higiênico, produ o agrícola, suplementa o alimentar, *Varroa destructor*

## EFFECT OF NUTRITION ON THE DEVELOPMENT OF HONEYBEE COLONIES USED FOR POLLINATION OF SOYBEAN PLANTS TREATED WITH BIXAFEM, PROTHIOCONAZOLE, AND TRIFLOXYSTROBIN FUNGICIDE

**ABSTRACT** - The pollination service performed by *Apis mellifera* bees is influenced by external factors, such as the availability of food resources and exposure to pesticides, which can compromise the development of colonies. This study investigated the impact of nutritional management in honey bee colonies on pollination and, consequently, on the production of soybeans from plants treated with a commercial fungicide containing the active ingredients bixafem, prothioconazole and trifloxystrobin. Six colonies received food supplementation, with energy syrup and protein steak, while the other six had their food restricted through the use of pollen collectors, for 7 weeks. The colonies were then taken to an area where Pioneer 95Y95IPRO soybeans were growing, at the R2 stage, when they were in full bloom. Each colony was installed in a 24 m<sup>2</sup> cage, with or without fungicide application. After 3 weeks, at the end of flowering, the colonies were removed from the cages and taken back to the apiary, and evaluations of weight, mapping, *Varroa destructor* index and hygienic behavior were carried out to understand the impact on the development of the colonies, for another six weeks. Soybean production was evaluated in cages with and without bees and in areas with free insect visitation, subjected or not to the fungicide. The results showed that the nutritional management of the group of colonies with food supplementation (CSA) resulted in a gradual increase in the weight of the colonies, while the group of colonies with food restriction (CRA) kept their weight constant. Applying the fungicide Fox Xpro® to the soybean plants reduced the weight of the colonies, but there were no significant differences in the weight of the colonies after they were removed from the pollination cages. Soybean yield was higher in plots pollinated with honey bees, but the fungicide had no significant impact on grain yield. *Varroa destructor* infestation and the hygienic behavior of the colonies were not significantly affected by the treatments. It can be concluded that nutritional supplementation of honey bees improves colony development, boosting the efficiency of the pollination service and contributing to increased agricultural productivity. This approach stands out as a promising strategy for optimizing soybean production, promoting the sustainability of beekeeping and agricultural efficiency, without compromising results with the use of fungicides.

**Keywords:** Agricultural production, *Apis mellifera*, food supplementation, hygienic behavior, *Varroa destructor*

## **CAPÍTULO 1 – Considerações gerais**

### **1.1 Biologia das abelhas melíferas**

As abelhas melíferas (*Apis mellifera*) têm sido exploradas pelo ser humano há milênios, inicialmente para a obtenção de mel. Ao longo do tempo, desenvolveram-se diversas formas de manejo que consolidaram a prática racional da apicultura. Originárias da Europa, Ásia e África, essas abelhas foram introduzidas nas Américas, Austrália, Nova Zelândia e ilhas do Pacífico nos últimos quatro séculos, tornando-se uma espécie cosmopolita devido à sua adaptabilidade a diferentes biomas e climas (Gupta, 2014). Essa capacidade de colonizar novas áreas reflete a plasticidade da espécie, sustentada por adaptações morfológicas e comportamentais que garantem sua sobrevivência em variados contextos ambientais (Whitfield et al., 2006; Aebi et al., 2012).

As abelhas melíferas são insetos eusociais, caracterizados por sua intensa cooperação reprodutiva e divisão de tarefas dentro da colônia (Gullan e Cranston, 2017). A colônia é organizada em três castas principais: rainhas, operárias e zangões. Como insetos holometábolos, seu ciclo de desenvolvimento passa por quatro estágios distintos: ovo, larva, pupa e adultos (Gupta, 2014; Zhao et al., 2020). O tamanho da população de operárias e zangões varia conforme as condições ambientais, especialmente a disponibilidade de alimentos (Page e Peng, 2001).

A diferenciação das castas baseia-se em um polimorfismo etário, com um único genótipo podendo dar origem a fenótipos distintos, como rainhas e operárias. Essa diferenciação é influenciada por fatores genéticos e nutricionais, resultando em diferenças significativas de comportamento, morfologia e fisiologia (Winston, 1991). As fêmeas, sejam operárias ou rainhas, desenvolvem-se a partir de ovos fertilizados, enquanto os zangões, que são machos, originam-se de ovos não fertilizados.

Durante as fases larvais, a alimentação desempenha um papel crucial na determinação da casta. Larvas que se tornarão operárias recebem geleia de operária, caracterizada por alto teor de umidade e mudanças na composição de proteínas e açúcares ao longo do desenvolvimento. Por outro lado, larvas que darão origem às rainhas são alimentadas exclusivamente com geleia real, que possui menor teor de umidade e concentrações mais altas de ácido 10-hidroxidecenóico (10-HDA),

essencial para o desenvolvimento das características da casta real (Wang et al., 2016).

Na estrutura social, a rainha exerce um papel central ao manter a coesão da colônia por meio da liberação de feromônios, particularmente o feromônio da glândula mandibular. Esse sinal químico regula o comportamento e a fisiologia das operárias e zangões, inibindo a produção de novas rainhas e atraindo zangões durante o voo nupcial (Slessor et al., 2005). A reprodução da colônia ocorre por enxameação, quando a rainha-mãe deixa o ninho com parte das operárias para fundar uma nova colônia, enquanto uma nova rainha emerge e assume o ninho original (Winston, 1987).

O ciclo reprodutivo da nova rainha é marcado por voos de acasalamento, nos quais ela copula com uma média de 12 zangões em um período de cinco a dez dias após atingir a maturidade sexual (Tarpay et al., 2004). Após o acasalamento, mudanças fisiológicas ocorrem, incluindo a maturação dos ovários e o crescimento dos ovaríolos, permitindo que a rainha produza até 2.000 ovos por dia, que podem ser equivalentes ao seu próprio peso corporal (Tanaka et al., 2004; Rueppell et al., 2016).

As operárias desempenham uma ampla gama de funções dentro da colônia, como cuidar das crias, processar alimentos, defender a colmeia e forragear. Esse trabalho é organizado por um padrão comportamental baseado na idade, conhecido como polietismo temporal. Abelhas jovens realizam tarefas internas, enquanto as abelhas mais velhas são responsáveis por atividades externas, como defesa e forrageamento. A flexibilidade nesse sistema de trabalho permite ajustes rápidos às mudanças ambientais, garantindo o funcionamento eficiente da colônia (Wilson, 1971; Beshers e Fewell, 2001).

Os zangões têm como função exclusiva a reprodução, sendo sua produção estrategicamente ajustada pelas colônias conforme fatores ambientais e reprodutivos. Normalmente, representam entre 5% e 10% da população adulta da colônia, com picos de criação que coincidem com o aumento na produção de operárias e precedem a temporada de enxameação, quando rainhas virgens são mais abundantes (Free e Williams, 1975; Page e Metcalf, 1984; Rueppell et al., 2016). Essa regulação resulta de interações entre rainha e operárias, que avaliam o valor adaptativo da produção de zangões em diferentes contextos (Boes, 2010). A eficiência desse equilíbrio, no entanto, está intimamente ligada à qualidade dos recursos alimentares disponíveis.

## 1.2 Nutrição das colônias de abelhas melíferas

A nutrição desempenha um papel essencial no desenvolvimento, saúde e produtividade das colônias de *Apis mellifera*, impactando diretamente sua resiliência frente aos desafios ambientais. Esses insetos obtêm nutrientes essenciais do néctar e do pólen das plantas com flores. O néctar, rico em carboidratos, é a principal fonte de energia para todas as fases e castas de indivíduos da colônia, enquanto o pólen fornece proteínas, lipídios e micronutrientes necessários para o desenvolvimento das glândulas e outras estruturas das crias e adultos (Roulston et al., 2000; Brodschneider e Crailsheim, 2010).

Tanto os adultos quanto as larvas de abelhas *Apis mellifera* dependem exclusivamente de recursos florais, como néctar e pólen, para suprir suas necessidades nutricionais (Michener, 2003). Operárias mais velhas, com mais de 21 dias de idade, desempenham um papel importante, seu comportamento de forrageamento reflete as necessidades, coletando néctar e pólen para alimentar a colônia, além de resina vegetal, usada na produção de própolis. Essa substância, a própolis, misturada à cera de abelha, é essencial na construção dos favos e no revestimento do interior da colmeia, contribuindo para a proteção antimicrobiana da colônia (Milani, 2021).

A diversidade de espécies vegetais no entorno da colônia é fundamental para a obtenção de uma dieta equilibrada, especialmente em períodos críticos, como a formação de colônias na primavera, o pleno desenvolvimento de crias no verão e a preparação para o inverno (Haydak, 1943; Roulston et al., 2000). No entanto, a expansão de monoculturas e a consequente redução da biodiversidade têm comprometido a qualidade nutricional, afetando negativamente a saúde e o desempenho das abelhas (Alaux et al., 2010). Esse quadro é agravado por outros estressores, como doenças e parasitas, que aumentam a mortalidade e reduzem a eficiência das abelhas no cumprimento de suas funções (Naug e Gibbs, 2009).

O pólen, a única fonte proteica das operárias, é indispensável para o crescimento da glândula hipofaríngea e do tecido adiposo (Biesmeijer et al., 1992). A presença de proteínas essenciais em níveis adequados é crucial para o aumento da produção de crias (Herbert e Shimanuki, 1979). Por outro lado, a má nutrição, caracterizada por desequilíbrios ou deficiências nutricionais, compromete a estrutura

populacional da colônia, resultando em declínio de abelhas e desarranjo etário (Schulz et al., 1998). Além disso, colônias subnutridas são mais suscetíveis às doenças e parasitas e podendo entrar em colapso diante de exposição a múltiplos estressores (Mayack e Naug, 2009).

A ocupação de grandes extensões com monoculturas tem contribuído para um desequilíbrio nutricional das abelhas. O pólen de monoculturas, geralmente pobre em um ou mais aminoácidos essenciais, não atende às demandas nutricionais completas das abelhas, reduzindo sua capacidade imunológica, principalmente quando o teor proteico da dieta é baixo (Alaux et al., 2010). Em ambientes com baixa abundância de alimentos, as abelhas tendem a abandonar essas áreas em busca de recursos mais abundantes e diversificados (Rodríguez-Gironés e Bosch, 2012). Por outro lado, o manejo nutricional, incluindo a suplementação artificial, pode melhorar a resiliência das colônias diante de desafios naturais e antropogênicos (Dolezal e Toth, 2018).

Nos períodos em que as floradas são insuficientes e as reservas alimentares estão baixas, a alimentação artificial torna-se uma alternativa interessante. Essa prática não apenas mantém as colônias saudáveis, mas também evita a perda de peso e aumenta a produtividade durante a safra de mel (Jean-Prost, 2007). Dietas enriquecidas com pólen de alta qualidade podem fortalecer o sistema imunológico das abelhas, aumentando sua resiliência frente a desafios ambientais, inclusive a exposição à agrotóxicos (Schmehl et al., 2014; Dolezal e Toth, 2018).

No entanto, fatores como a falta de recursos naturais e condições ambientais adversas continuam a reduzir a expectativa de vida das abelhas, podendo levar ao colapso das colônias em situações extremas (Degrandi-Hoffman et al., 2018; Holder et al., 2018). A intensificação do uso da terra e a redução da diversidade floral dificultam o acesso a uma dieta equilibrada, comprometendo o desenvolvimento e a sobrevivência das abelhas (Winfrey et al., 2009; Soroye et al., 2020).

Em face das pressões sobre os ecossistemas naturais, o atendimento das demandas nutricionais por meio da suplementação alimentar surge como uma ferramenta para a sobrevivência das colônias, especialmente em momentos de escassez de recursos. Dietas ricas em pólen de alta qualidade não só promovem a saúde das abelhas, como também as tornam mais resistentes aos impactos dos agrotóxicos (Schmehl et al., 2014). Assim, garantir uma dieta de qualidade nutricional

é uma estratégia para a preservação das abelhas e para a continuidade dos serviços ecológicos que elas proporcionam (Di Pasquale et al., 2013). A presença de alimentos balanceados também melhora a produtividade, favorecendo o desenvolvimento de frutos e sementes de alta qualidade, diretamente relacionados à ação polinizadora eficiente.

### **1.3 Importância da polinização para as culturas agrícolas**

A polinização é o processo de transferência do pólen das estruturas reprodutivas masculinas das flores (anteras) para as estruturas reprodutivas femininas (estigmas), permitindo a fecundação. Esse processo pode ocorrer de forma abiótica, por ação do vento, ou biótica, realizada principalmente por insetos e, em menor escala, por pássaros e mamíferos, dependendo da espécie vegetal. Aproximadamente 75% das culturas agrícolas globais se beneficiam da polinização biótica, realizada por insetos, o que demonstra sua relevância para a produção agrícola (Klein et al., 2007).

A polinização é um serviço ecossistêmico essencial, com impacto econômico significativo na agricultura global. Os polinizadores contribuem com cerca de €150 bilhões anualmente para as plantações de alimentos em todo o mundo (Gallai et al., 2009). Entre os polinizadores, as abelhas são consideradas as mais eficientes e importantes (Potts et al., 2016). Das 124 principais culturas consumidas diretamente pelo ser humano, 87 dependem da polinização biótica para maximizar sua produção (Klein et al., 2007). A polinização, promovida pelas abelhas durante a coleta de recursos florais, é um processo indispensável para a reprodução de plantas e a manutenção dos ecossistemas terrestres. Este serviço conecta diretamente os sistemas naturais aos agrícolas, sendo essencial para a produção de alimentos e o equilíbrio ecológico global (Gupta et al., 2014). Cerca de 70% das espécies cultivadas dependem especificamente da ação das abelhas, o que além de aumenta os rendimentos, também favorece a qualidade dos frutos e sementes (Stein et al., 2017; Adamidis et al., 2019). Além disso, as abelhas contribuem para a uniformidade no amadurecimento dos frutos e diminuição das perdas na colheita (Williams et al., 1991). Na ausência desses polinizadores, os rendimentos agrícolas podem ser reduzidos em até 40% (Klein et al., 2007).

O crescimento da agricultura nas últimas décadas aumentou ainda mais a dependência da polinização por insetos. Entre 1961 e 2016, a área agrícola global cresceu cerca de 41%, enquanto a área destinada a culturas dependentes de polinizadores aumentou 137% no mesmo período. Atualmente, 33% da área agrícola global é ocupada por culturas que dependem de polinizadores, e a proporção de terras cultivadas com essas culturas cresceu aproximadamente 70% (Aizen et al., 2019). Contudo, as mudanças no uso da terra associadas à intensificação agrícola têm impactos negativos não apenas na biodiversidade, mas também na provisão de serviços ecossistêmicos, como a polinização, fundamentais para a sustentabilidade da agricultura (Mitchell et al., 2015).

As abelhas melíferas, em particular, possuem características que as tornam eficientes polinizadores. Sua constância floral, comunicação eficiente, presença de pelos em todo o corpo e estruturas especializadas para coleta e transporte de pólen são adaptações evolutivas fundamentais para essa função (Crane, 1999). Durante o processo de coevolução com as plantas angiospermas, iniciado há cerca de 100 a 120 milhões de anos no período Cretáceo Inferior, as abelhas desenvolveram estruturas específicas, como a prensa, os pentes e a escova de pólen, localizadas nas pernas traseiras. Essas estruturas facilitam a coleta e o transporte do pólen para a corbícula, uma concavidade exclusiva das abelhas da família Apidae, incluindo as melíferas (Michener, 2003; Danforth, 2007). Essa eficiência, combinada com sua ampla distribuição, facilidade de manejo e capacidade de transporte, torna as abelhas melíferas valiosas para serviços de polinização agrícola (Hanley et al., 2015).

Além de sua importância econômica, a polinização desempenha um papel vital na interação entre os ecossistemas naturais e a produção agrícola. Esse serviço é decisivo para a segurança alimentar global e para a manutenção da biodiversidade, garantindo a reprodução de inúmeras plantas cultivadas e silvestres. Globalmente, a maioria das plantas só produz frutos ou sementes após uma polinização bem-sucedida (Ollerton et al., 2011). Contudo, a eficiência da polinização enfrenta ameaças, especialmente quando se considera a saúde das abelhas, que compõem o principal grupo de polinizadores.

#### **1.4 Impactos da *Varroa destructor* no desenvolvimento das abelhas melíferas**

O ácaro *Varroa destructor* é amplamente reconhecido como o parasita mais significativo das abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.). Ele infesta tanto as crias quanto as abelhas adultas, reproduzindo-se nas células com cria em desenvolvimento e atuando como vetor de diversas doenças virais, o que contribui significativamente para a redução da saúde e produtividade das colônias de abelhas melíferas (Sammataro et al., 2000). Desde sua introdução no mundo ocidental, a *Varroa destructor* tem sido associada a perdas maciças de colônias nos EUA e na Europa, especialmente desde 2006, com implicações econômicas e ecológicas severas para a apicultura (Le Conte et al., 2010).

Filogeneticamente, os ácaros do gênero *Varroa* estão relacionados a ácaros predadores e parasitas que utilizam a digestão extraoral como estratégia alimentar (Klompen et al., 2007). No caso de *Varroa destructor*, o tecido preferencialmente consumido é o corpo gorduroso das abelhas, um órgão vital localizado próximo à cutícula, que desempenha papéis essenciais na regulação hormonal, na resposta imunológica e na desintoxicação de agrotóxicos (Arrese et al., 2010; Ramsey et al., 2019).

A infestação por *Varroa destructor* compromete severamente a imunidade das abelhas melíferas ao reduzir a expressão de genes responsáveis pela síntese de peptídeos antimicrobianos e enzimas associadas à resposta imune (Yang et al., 2005). Além disso, a alimentação do ácaro interfere nos hidrocarbonetos da superfície da cutícula das abelhas, o que pode impactar negativamente sua capacidade de tolerar o estresse hídrico e manter o equilíbrio hídrico corporal, reduzindo significativamente sua sobrevivência (Annoscia et al., 2012). Esse enfraquecimento no desenvolvimento das colônias reforça a importância de comportamentos que ajudem a prevenir a disseminação de doenças e parasitas.

#### **1.5 Comportamento higiênico das abelhas melíferas**

O comportamento higiênico em abelhas *Apis mellifera* é significativo para a manutenção da saúde e funcionalidade das colônias. Esse comportamento consiste na remoção de detritos, larvas mortas, pupas infectadas e outros elementos estranhos da colmeia, prevenindo a propagação de doenças e parasitas e promovendo um

ambiente propício ao desenvolvimento das crias e à produção de mel (Antunes, 2020; Silva, 2021; França, 2021; Nascimento, 2023; Souza et al., 2023).

Esse processo garante o equilíbrio ecológico dentro da colônia e aumenta sua resiliência contra agentes patogênicos e parasitas. A habilidade das abelhas em detectar e remover crias infectadas baseia-se em sinais químicos e físicos específicos emitidos pelas larvas doentes (Silva, 2021; Nascimento, 2023; Farias et al., 2024).

Fatores genéticos desempenham um papel central no comportamento higiênico, permitindo que colônias com maior eficiência nessa prática transmitam essas características às gerações futuras. A seleção artificial para aprimorar esses atributos é uma estratégia amplamente utilizada para fortalecer colônias, reduzir a infestação por parasitas e melhorar a sustentabilidade da apicultura (Nascimento, 2023; Ferraz, 2024; Farias et al., 2024).

Do ponto de vista econômico e social, colônias saudáveis proporcionam maior produtividade de mel, própolis e outros produtos apícolas. Além disso, a saúde das colônias reflete diretamente na resiliência das abelhas às condições ambientais adversas, fortalecendo a economia local e global associada à apicultura (Silva, 2021; Lunardi, 2022; Nascimento, 2023; Souza et al., 2023).

A defesa contra parasitas e patógenos inclui não apenas mecanismos fisiológicos individuais, mas também comportamentos coletivos conhecidos como "imunidade social". Essa defesa coletiva é comparável a sistemas imunes humorais e celulares, potencializando a resistência da colônia contra infecções e parasitas (Cremer et al., 2007; Wilson-Rich et al., 2008; Cremer e Sixt, 2009).

O comportamento higiênico exemplifica essa imunidade social. A detecção precoce de crias infectadas ou parasitadas, seguida de sua remoção antes de favorecerem a disseminação de doenças e parasitas, é um aspecto crítico para a manutenção da saúde e produtividade das colônias. Abelhas com maior sensibilidade ao odor de crias doentes demonstram eficiência superior nesse comportamento, assegurando maior proteção e equilíbrio ecológico dentro da colmeia (Masterman et al., 2001; Spivak et al., 2003; Arathi et al., 2006; Wilson-Rich et al., 2009). Esse tipo de comportamento coletivo e eficiente é crucial em diversos ecossistemas, incluindo aqueles que sustentam a produção agrícola. No caso da soja, por exemplo, sua crescente relevância econômica no Brasil reflete uma expansão da produção que,

assim como nas colônias de abelhas, é sustentada por um sistema complexo de interações, estratégias e melhorias constantes.

### **1.6 Relevância da cultura da soja**

Na safra de 2023/2024, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab, 2024), o Brasil semeou 45.235.400 hectares de soja, alcançando uma produção superior a 146 milhões de toneladas e uma produtividade média de 3.239 kg/ha. A expansão contínua da produção de soja no país é impulsionada pelo retorno econômico atrativo e pela disponibilidade de terras cultiváveis com preços competitivos, além de uma infraestrutura em constante melhoria para a produção e o escoamento das safras (Freitas, 2022). A área plantada com soja em Mato Grosso, principal Estado produtor brasileiro, deverá atingir 16,62 milhões de hectares em 2033/34, crescimento de 33,2% ante a temporada 2023/24, com a conversão de pastagens em lavouras, de acordo com o Instituto Matogrossense de Economia Agropecuária (IMEA, 2024).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das principais culturas agrícolas do mundo, respondendo por 25% do óleo comestível global e cerca de dois terços do concentrado proteico utilizado na alimentação animal (Masuda e Goldsmith, 2009). Apesar de ser descrita como autógama e auto compatível, capaz de produzir sementes sem agentes polinizadores, suas flores possuem néctar, aroma e guias de néctar que atraem visitantes florais. Esses insetos não apenas promovem a autopolinização, mas também aumentam a ocorrência de polinização cruzada, elevando a produtividade da cultura (Erickson, 1984). A dependência da soja por polinizadores bióticos é considerada modesta, mas sua ausência pode reduzir o potencial de produção em até 40% (Klein et al., 2007).

Esse benefício da polinização biótica é evidenciado por diversos estudos realizados em diferentes países. No Brasil, nos Estados Unidos e na Argentina, pesquisas mostraram que a presença de polinizadores pode aumentar a produção de soja de 6% até 18% (Milfont et al., 2013). Dessa forma, os polinizadores desempenham um papel importante não só no aumento da produtividade das culturas, mas também na sustentabilidade dos sistemas agrícolas, além de contribuírem para a manutenção da biodiversidade global (Pascual et al., 2017).

Estudos demonstram que a visitação de abelhas às flores de soja tem um impacto significativo na produtividade. Chacoff et al. (2024) relataram que plantas abertas à visitação de insetos produziram, em média, 76 vagens por planta, em comparação com 51 vagens nas flores ensacadas. Além disso, o número de sementes por planta foi 74% maior nas flores expostas à polinização livre. Milfont et al. (2013) também observaram que plantas visitadas por abelhas apresentaram maior número de vagens com três sementes, reforçando a eficiência desses insetos na melhoria da qualidade da colheita.

A contribuição das abelhas para a produtividade da soja foi ainda evidenciada por Santos (2020), que constatou um aumento de 6,3% na produção de sementes em áreas abertas para polinizadores e 13,8% em áreas com colônias de abelhas. Nessas condições, as plantas apresentaram maior número de vagens e sementes por vagem, indicando que a polinização cruzada mediada por insetos reduz a taxa de aborto de flores e favorece o desenvolvimento das vagens. Assim, o serviço de polinização realizado por abelhas *Apis mellifera* gera não apenas ganhos em produtividade, mas também benefícios econômicos diretos. Giannini et al. (2015) estimaram que a polinização da soja por agentes bióticos, especialmente abelhas, gera US\$ 5,7 bilhões anuais no Brasil. Apesar dos avanços agronômicos, como os descritos por Felipe et al. (2016), o rendimento da soja ainda pode ser melhorado por meio de práticas sustentáveis de manejo.

Problemas relacionados a surtos de pragas frequentemente prejudicam a eficiência produtiva e podem ser mitigados com a adoção de Técnicas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), como defendido por Zalucki et al. (2009). O MIP combina diferentes estratégias para controlar populações de pragas, minimizando impactos econômicos e ecológicos. Essa abordagem, fundamentada nos princípios do equilíbrio biológico, foi introduzida no Brasil em 1975 pela Embrapa em parceria com outras instituições, promovendo uma redução no uso de agrotóxicos e mostrando benefícios tanto ambientais quanto econômicos (Kogan, 1998; Panizzi, 2013). No entanto, o uso indiscriminado de agrotóxicos voltou a crescer nas últimas décadas devido ao custo relativamente baixo e à simplicidade de aplicação de produtos sintéticos, resultando em crescimento aquém do potencial das estratégias de controle biológico (Bueno et al., 2011).

A prática de misturar inseticidas com fungicidas e herbicidas em uma única aplicação, muitas vezes sem considerar o Limiar Econômico, tornou-se comum entre os sojicultores brasileiros. Essa prática, embora inicialmente vantajosa do ponto de vista operacional, pode resultar em efeitos colaterais, como o aumento da resistência de pragas e o impacto negativo sobre fungos e predadores benéficos (Zalucki et al., 2009). O problema foi agravado com a chegada da ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2001/2002, que aumentou significativamente o uso de fungicidas (Sosa-Gómez, 2005).

Embora os fungicidas tenham se tornado indispensáveis para o controle da ferrugem, seu uso excessivo pode comprometer os benefícios dos organismos não-alvo, como predadores naturais de pragas (Bueno et al., 2011). Assim, é necessário equilibrar as práticas agrônômicas com estratégias sustentáveis para preservar a saúde do agroecossistema e maximizar o retorno econômico da soja.

### **1.7 Efeitos dos fungicidas na agricultura**

Desde os primórdios da agricultura, as plantas cultivadas têm enfrentado a ameaça de pragas e doenças. Com o grande crescimento populacional nos séculos XX e XXI, houve a necessidade de expandir as áreas de cultivo e garantir safras capazes de atender à crescente demanda por alimentos. Nesse contexto, os agrotóxicos sintéticos, incluindo fungicidas, tornaram-se ferramentas decisivas para mitigar os impactos causados por fungos fitopatogênicos (Oerke, 2006). A busca por controle eficaz desses organismos começou há mais de dois séculos, com o uso de produtos inorgânicos à base de cobre e enxofre. Embora ainda sejam utilizados, esses produtos possuem aplicações limitadas devido a sua toxicidade para organismos não-alvo, eficiência e implicações ambientais (Brent e Hollomon, 2007).

Na década de 30 do século XX, surgiram os primeiros fungicidas orgânicos, que proporcionavam proteção de contato às plantas. Em 1966, os fungicidas sistêmicos trouxeram maior eficiência ao tratamento de doenças específicas. Contudo, o uso repetitivo desses produtos resultou na seleção de fungos resistentes, reduzindo gradualmente sua eficácia (Russell, 2005). O uso excessivo e as altas doses aplicadas, além de aumentar a resistência, também contribuíram para a

contaminação ambiental, criando desafios para o manejo sustentável (Ghini e Kimati, 2002; Lucas et al., 2015).

O crescimento no uso de fungicidas é evidente. Entre 2000 e 2022, a quantidade global de fungicidas e bactericidas aplicados aumentou 42,7%, alcançando 836 mil toneladas anuais, enquanto a área agricultável global expandiu apenas 12,3% (FAO, 2021). Atualmente, os fungicidas representam 11% de todos os agrotóxicos utilizados na agricultura (FAO, 2022). Embora tradicionalmente considerados de baixo risco para insetos, estudos recentes apontam que sua aplicação durante a floração das culturas expõe abelhas a resíduos potencialmente prejudiciais, afetando sua saúde e a das colônias (Kubik et al., 1999; National Honey Bee Health Stakeholder, 2012).

Para aumentar a eficiência no controle de doenças, surgiram fungicidas com múltiplos princípios ativos, como o Fox Xpro®, composto pelos princípios ativos bixafem, protioconazol e trifloxistrobina. Este produto, amplamente utilizado no Brasil para culturas como soja, milho, trigo e girassol, controla diversos fungos e possui registro no Ministério da Agricultura (Bayer, 2019). Em 2021, foram comercializadas 5,05 toneladas de trifloxistrobina, 4,19 toneladas de protioconazol e 2,06 toneladas de bixafem no Brasil (IBAMA, 2022), evidenciando sua importância no manejo agrícola.

Embora eficazes no combate a fungos fitopatogênicos, a aplicação de fungicidas como o Fox Xpro® durante a floração expõe abelhas às substâncias ativas. Estudos confirmam a presença de resíduos em mel, pão das abelhas e cera, colocando em risco visitantes florais, como as abelhas melíferas e nativas (David et al., 2016; Fisher et al., 2017). Durante as pulverizações, as abelhas entram em contato direto com os fungicidas ao visitar as partes superiores das plantas, especialmente quando são usados bicos pulverizadores que produzem gotículas finas (Freitas et al., 2024).

As consequências dessa exposição vão além do contato inicial. Fungicidas como bixafem, protioconazol e trifloxistrobina têm demonstrado impactos na expressão gênica de abelhas. Em experimentos recentes, Kato et al. (2024) observaram alterações significativas em genes relacionados aos sistemas antioxidante e de detoxificação em abelhas submetidas a condições de restrição alimentar com exposição aos fungicidas por contato, sugerindo que o estado

nutricional pode agravar os efeitos tóxicos. Apesar dessas evidências, os efeitos combinados desses três princípios ativos permanecem pouco explorados, representando uma lacuna crítica no entendimento dos riscos associados (Simon-Delso et al., 2018; Bénit et al., 2019).

Além disso, o uso intensivo de fungicidas durante a floração contradiz o objetivo de preservar a integridade dos polinizadores, essenciais para a produtividade agrícola. A soja, por exemplo, se beneficia da polinização por abelhas, com estudos indicando aumentos de até 74% na produtividade em plantas visitadas por esses insetos (Milfont et al., 2013; Chacoff et al., 2024). A aplicação indiscriminada de fungicidas não apenas compromete os polinizadores, mas também intensifica a resistência fúngica e reduz a eficácia do manejo integrado de doenças (Russel, 2005).

Para reduzir esses impactos, é necessário adotar práticas agrícolas mais sustentáveis, como o uso racional de fungicidas com base em critérios técnicos, diversificação de mecanismos de ação e integração de ferramentas de manejo que priorizem a preservação dos agentes polinizadores. Embora os avanços na formulação de fungicidas tenham ampliado sua eficiência, a agricultura moderna deve equilibrar produtividade com sustentabilidade, garantindo que as práticas adotadas protejam o ambiente e os organismos benéficos.

### **1.7.1 Fungicida bixafem**

O bixafem é um fungicida pertencente ao grupo químico das carboxamidas, classificado como um inibidor da succinato desidrogenase (SDH), atuando especificamente na cadeia respiratória mitocondrial dos fungos (FRAC, 2025). A enzima succinato desidrogenase é essencial para o transporte de elétrons no complexo II das mitocôndrias fúngicas (Keon et al., 1991). Ao inibir esse processo, o bixafem reduz a eficiência da cadeia de transporte de elétrons, limitando a produção de ATP, a principal fonte de energia celular. Como resultado, as células fúngicas tornam-se incapazes de sustentar suas funções vitais, levando ao enfraquecimento e eventual morte dos fungos (Oliver e Hewitt, 2014).

Estudos destacam os impactos dos SDH em sistemas biológicos além dos fungos. D'Hose et al. (2021) observaram que a exposição de curto prazo de células humanas HepG2 aos fungicidas SDH, como boscalida e bixafem, induz disfunção

mitocondrial, alterando o consumo de oxigênio, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e desencadeando processos de apoptose celular. Esses efeitos mitocondriais levantam preocupações sobre potenciais impactos em organismos não-alvo.

Em relação às abelhas, pesquisas específicas sobre o bixafem ainda são limitadas, mas estudos iniciais apontam possíveis consequências negativas para as abelhas *Apis mellifera*. Exposição ao bixafem pode interferir na função mitocondrial das abelhas, levando a alterações metabólicas significativas e redução na longevidade destes insetos (Kato et al., 2024). Além disso, fungicidas do grupo SDH, como o bixafem, têm demonstrado efeitos sinérgicos, aumentando sua toxicidade quando combinados com outros agrotóxicos, especialmente neonicotinóides (Tsvetkov et al., 2017). Essas combinações podem comprometer comportamentos críticos, como forrageamento e comunicação dentro da colônia, essenciais para a sobrevivência das abelhas.

O bixafem, considerado uma geração moderna de fungicidas SDH devido à sua ação mesostêmica (translaminar) e sistêmica, é amplamente utilizado na agricultura, particularmente no controle eficaz de doenças fúngicas em culturas como trigo e cevada (Oliver e Hewitt, 2014). No entanto, estudos demonstram que abelhas expostas ao bixafem por contato apresentam aumento significativo nos níveis de estresse oxidativo e aumento da atividade das enzimas antioxidantes, sugerindo uma resposta ao dano celular, destacando a necessidade de estratégias que minimizem o risco de exposição direta durante as pulverizações (Freitas et al., 2024).

### **1.7.2 Fungicida trifloxistrobina**

A trifloxistrobina pertence ao grupo químico das estrobilurinas, uma classe de fungicidas amplamente utilizada no controle de doenças fúngicas. Esses compostos atuam como inibidores extracelulares de quinona (QoI), bloqueando a transferência de elétrons na região externa da quinona do complexo bc1, também conhecido como complexo III, que faz parte da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. Esse mecanismo de ação impede a produção de energia pelo patógeno, comprometendo sua sobrevivência (FRAC, 2025).

O bloqueio da cadeia respiratória mitocondrial reduz a produção de ATP, essencial para as funções vitais das células fúngicas, resultando na deterioração e eventual morte do fitopatógeno. Esse efeito é observado em diversas estrobilurinas, incluindo a trifloxistrobina, cuja ação translaminar e preventiva a torna eficaz no controle de doenças foliares e frutíferas em culturas como cereais, frutas e vegetais. A aplicação preventiva é recomendada antes do aparecimento de infecções, garantindo maior eficiência contra fungos fitopatogênicos (Zambolim, 2007; Reis et al., 2017; FRAC, 2025).

Estudos sobre outras estrobilurinas demonstram possíveis efeitos adversos em organismos não-alvo. Christen et al. (2019) investigaram a toxicidade da azoxistrobina e observaram a regulação negativa de genes envolvidos no metabolismo, fosforilação oxidativa e regulação hormonal em abelhas, comprometendo a produção de energia, o desenvolvimento e o comportamento desses insetos. De maneira semelhante, Tadei et al. (2019) relataram que a piraclostrobina, outro composto do mesmo grupo químico, causou danos ao intestino médio das abelhas melíferas e inibiu a cadeia respiratória mitocondrial, com efeitos similares aos observados em fungos.

Embora os estudos específicos sobre os impactos da trifloxistrobina em abelhas melíferas sejam limitados, há evidências de sua toxicidade em outras espécies de polinizadores. Silva-Neto et al. (2018) constataram que a trifloxistrobina aumentou significativamente a mortalidade e apresentou efeitos repelentes em *Melipona quadrifasciata*, uma espécie nativa de abelha que desempenha um papel crucial na polinização de culturas que requerem vibração para liberação do pólen.

### **1.7.3 Fungicida protioconazol**

O protioconazol é um fungicida pertencente ao grupo dos triazóis, uma classe de compostos conhecida por sua atuação como inibidores da desmetilação (IDM). Seu mecanismo de ação baseia-se na interferência na biossíntese de esteróis, essenciais para a formação das membranas celulares dos fungos (FRAC, 2025). Ao inibir a passagem de lanosterol para 24-metilenodihidrolanoesterol e bloquear a desmetilação na posição C-14, o protioconazol impede a formação de ergosterol, um esterol crucial para a integridade e funcionalidade da membrana celular dos fungos.

Essa inibição ocorre devido à interferência no citocromo P-450, levando à produção de compostos metilados que não conseguem desempenhar funções celulares específicas. Como consequência, há um desequilíbrio lipídico na membrana fúngica, com acúmulo de ácidos graxos livres e inibição da síntese de fosfolipídeos, resultando, eventualmente, na morte do organismo fúngico (Zambolim, 2007; Reis et al., 2017).

Os IDM possuem um amplo espectro de atividade e são eficazes contra uma grande variedade de patógenos em culturas de alta relevância econômica, como grãos, frutas e videiras (FRAC, 2025). Esses fungicidas atuam de forma abrangente, protegendo as plantas ao inibir a germinação de esporos, o desenvolvimento de tubos germinativos, além de suprimir o crescimento micelial e a formação de haustórios. Desde sua introdução no mercado, em 2004, o protioconazol tem sido amplamente utilizado no manejo de doenças como ferrugem, oídio e manchas foliares, em culturas como soja, cereais e algodão, consolidando-se como um importante insumo para o controle fitopatológico (Zambolim, 2007; Reis et al., 2017).

Embora os efeitos do protioconazol em abelhas melíferas (*Apis mellifera*) sejam pouco documentados, estudos envolvendo fungicidas da mesma classe indicam potenciais impactos negativos em polinizadores. Esses compostos podem causar alterações comportamentais, como redução na capacidade de forrageamento, e comprometer a resistência das abelhas a patógenos, aumentando sua vulnerabilidade a infecções (Fisher et al., 2017).

O estudo se torna especialmente relevante ao considerar a importância das abelhas na polinização da soja, uma cultura de grande destaque no cenário agrícola global. Embora a soja tenha a capacidade de se autopolinizar, a presença de polinizadores bióticos, principalmente as abelhas, pode aumentar significativamente sua produtividade, tanto em quantidade quanto em qualidade. Nesse cenário, a nutrição das colônias é um fator determinante para o desempenho das abelhas na polinização. No entanto, o uso intensivo de fungicidas nas lavouras, ainda que necessário para o manejo de doenças, pode interferir negativamente no desenvolvimento e na eficiência desses importantes polinizadores. Diante disso, por meio deste trabalho, buscou-se compreender como a nutrição das abelhas e a exposição a fungicida de tripla ação impactam o desempenho destes insetos e seu papel na polinização, visando contribuir para a sustentabilidade da produção agrícola

por meio da obtenção de maiores safras e menores impactos no desenvolvimento das colônias de abelhas melíferas.

## Referências

Aebi A, Vaissière BE, VanEngelsdorp D, Delaplane KS, Roubik DW, Neumann P (2012) Back to the future: Apis versus non-Apis pollination. **Trends in Ecology & Evolution** 27(3):142–143.

Aizen MA, Aguiar S, Biesmeijer JC, Garibaldi LA, Inouye DW, Jung C, Martins DJ, Medel R, Morales CL, Ngo H, Pauw A, Paxton RJ, Sáez ZA, Seymour CL (2019) Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. **Global Change Biology** 25(10):3516-3527.

Alaux C, Ducloz F, Crauser D, Le Conte Y (2010) Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters** 6(4):562-565.

Alves TRR, Trivellato MF, Freitas TAL, Kato AY, Gomes CRA, Ferraz YMM, Serafim JÁ, Jong D, Prado EP, Vicente EF, Orsi RO, Pereira GT, Miranda CA, Mingatto FE, Nicodemo D (2024) Pollen contaminated with a triple-action fungicide induced oxidative stress and reduced longevity though with less impact on lifespan in honey bees from well-fed colonies. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 112:104587.

Annoscia D, Piccolo FD, Nazzi F (2012) How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. **Journal of Insect Physiology** 58(12):1548-1555.

Arathi HS, Ho G, Spivak M (2006) Inefficient task partitioning among nonhygienic honeybees, *Apis mellifera* L., and implications for disease transmission. **Animal Behaviour** 72(2):431-438.

Arrese EL, Soulages JL (2010) Insect fat body: Energy, metabolism, and regulation. **Annual Review of Entomology** 55:207-225.

Bayer (2019) **Fox Xpro Fungicide**. Bayer Crop Science. Disponível em: <https://www.bayercropscience.com>

Bénit P, Kahn A, Chretien D, Bortoli S, Huc L, Schiff M, Gimenez-Roqueplo AP, Favier J, Gressens P, Rak M, Rustin P (2019) Evolutionarily conserved susceptibility of the mitochondrial respiratory chain to SDHI pesticides and its consequence on the impact of SDHIs on human cultured cells. **PloS One** 14(11):e0224132.

Beshers SN, Fewell JH (2001) Models of division of labor in social insects. **Annual Review of Entomology** 46(1):413-440.

Biesmeijer JC, Van Marwijk B, Van Deursen K, Punt W, Sommeijer MJ (1992) Pollen sources for *Apis mellifera* L. (Hym, Apidae) in Surinam, based on pollen grain volume estimates. **Apidologie** 23(3):245-256.

Boes KE (2010) Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: An interplay of queen and worker decisions. **Insectes Sociaux** 57:1-9.

Brent KJ, Hollomon DW (2007) Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? Fungicide Resistance Action Committee, **FARC Monograph** 1(2).

Brodschneider R, Crailsheim K (2010) Nutrition and health in honey bees. **Apidologie** 41:278-294.

Bueno AF, Batistela MJ, Bueno RCOF, França-Neto JB, Nishikawa MAN, Filho AL (2011) Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection** 30(7):937-945.

Christen V, Krebs J, Fent K (2019) Fungicides chlorothanolin, azoxystrobin and folpet induce transcriptional alterations in genes encoding enzymes involved in oxidative phosphorylation and metabolism in honey bees (*Apis mellifera*) at sublethal concentrations. **Journal of Hazardous Materials** 377:215-226.

Crane E (1999) **The world history of beekeeping and honey hunting**. Routledge.

Cremer S, Armitage S, Schmid-Hempel P (2007) Social immunity. **Current Biology** 17(16):R693-702.

Cremer S, Sixt M (2009) Analogies in the evolution of individual and social immunity. **Biological Sciences** 364:129-142.

D'Hose D, Isenborghs P, Brusa D, Jordan BF, Gallez B (2021) The short-term exposure to SDHI fungicides boscalid and bixafen induces a mitochondrial dysfunction in selective human cell lines. **Molecules** 26(19):5842.

Danforth B (2007) Bees. **Current Biology** 17(5):R156-161.

David A, Botías C, Abdul-Sada A, Nicholls E, Rotheray EL, Hill EM, Goulson D (2016) Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. **Environment International** 88:169-178.

Degrandi-Hoffman G, Chen Y, Huang E, Huang MH (2018) The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus titers in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology** 56(9):1184-91.

Di Pasquale G, Salignon M, Conte YL, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet JL, Alaux C (2013) Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? **PloS One** 8(8):e72016.

Dolezal AG, Toth AL (2018) Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health. **Current Opinion in Insect Science** 26:114-119.

Farias LS, de Jesus MC, Modesto VC, da Costa MM, Brito ER, Pinheiro EEG, de Carvalho CAL (2024) Seleção de Colônias de *Apis mellifera* por meio da avaliação do comportamento higiênico. **Diversitas Journal** 9(1):71-80.

Erickson EH (1984) Research Notes: United States: Soybean floral ecology and insect pollination. **Soybean Genetics Newsletter** 11(1).

FAO (2021) Pesticides use. Global, regional and country trends, 1990–2018. **FAOSTAT Analytical Brief Series** 16(1):10.

FAO (2022) Land statistics and indicators. Global, regional and country trends, 2000–2020. **FAOSTAT Analytical Brief**, 48:15.

Felipe M, Gerde JA, Rotundo JL (2016) Soybean Genetic Gain in Maturity Groups III to V in Argentina from 1980 to 2015. **Crop Science** 56(6):3066-3077.

Ferraz YMM (2024) **Efeito da Nutrição e da Própolis Verde Sobre Aspectos Biológicos em Abelhas Melíferas Expostas ao Fungicida Fox Xpro®**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista (Unesp – Jaboticabal). Disponível em: <https://hdl.handle.net/11449/256929>

Fisher A, Carvalho CU, Oliveira C, Ribeiro B, Oliveira J, Rangel E (2017) Synergistic effects of almond protective fungicides on the survival of bee foragers (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology** 10(3):802-808.

COMITÊ DE AÇÃO À RESISTENCIA A FUNGICIDAS (Brasil). **Modo de ação de fungicidas**. Disponível em: <https://www.frac-br.org/modo-de-acao>. Acesso em 14 abril 2025.

França SO (2021) **Parasitas e patógenos de *Apis mellifera* (Apini) em Meliponini**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós Graduação em Ciência Animal. Disponível em: [https://www2.ufrb.edu.br/ppiz/images/Disserta%C3%A7%C3%B5es/Dissert\\_Suelen\\_Oliveira\\_Franc%CC%A7a.pdf](https://www2.ufrb.edu.br/ppiz/images/Disserta%C3%A7%C3%B5es/Dissert_Suelen_Oliveira_Franc%CC%A7a.pdf)

Free JB, Williams IH (1975) Factors determining the rearing and rejection of drones by the honeybee colony. **Animal Behaviour** 23:650–675.

Freitas TAL, Alves TRR, Trivellato MF, Kato AY, Gomes CRA, Ferraz YMM, Nicodemo D (2024) Food supplementation does not prevent oxidative stress in forager honey bees exposed to the fungicides bixafen, prothioconazole and trifloxystrobin. **Journal of Apicultural Research** 1–12. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00218839.2024.2406101>

Gallai N, Salles JM, Settele J, Vaissière BE (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics** 68(3):810-821.

Ghini R, Kimati H (2002) Resistência de Fungos a Fungicidas. **Embrapa Meio Ambiente** 78. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/13231>

Giannini TC, Cordeiro GD, Freitas BM, Saraiva AM, Imperatriz-Fonseca VL (2015) The Dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology** 108(3):849-57.

Gullan PJ, Cranston PS (2017) Insetos: fundamentos da entomologia. **Roca** 5.

Gupta RK, Reybroeck W, Veen JWV, Gupta A (2014) Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security. **Springer** 1.

Hanley N, Breeze TD, Ellis C, Goulson D (2015) Measuring the economic value of pollination services: Principles, evidence and knowledge gaps. **Ecosystem Services** 14:124-132.

Haydak MH (1943) Larval food and development of castes in the honeybee. **Journal of Economic Entomology** 36(5):778-792.

Herbert EWJ, Shimanuki H (1979) Seasonal protein preferences of free flying colonies of honey bees. **American Bee Journal** 119(4):298–299.

Hollomon DW (2015) Fungicide resistance: Facing the challenge. **Plant Protection Science** 51(4):170–176.

IBAMA (2022) **Vendas de ingredientes ativos por unidade da federação em 2022: Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Disponível em: [https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/arquivos/qualidadeambiental/relatorios/2022/2022\\_12\\_22\\_ven-das\\_ingredientes\\_ativos\\_uf\\_2021\\_todos\\_os\\_ias\\_quimicos.xlsx/view](https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/arquivos/qualidadeambiental/relatorios/2022/2022_12_22_ven-das_ingredientes_ativos_uf_2021_todos_os_ias_quimicos.xlsx/view)

IMEA (2024) **Projeções do agronegócio em Mato Grosso de 2024 a 2034**. Outlook 14-18. Disponível em: <https://imea.com.br/imea-site/arquivo-externo?categoria=lancamentos&arquivo=rel-conjunturaeconomia&numeropublicacao=10>

Jean-Prost P (2007) Apicultura: Conocimiento de la abeja, manejo de la colmena. **Mundi-Prensa** 4.

Kato AY, Freitas TAL, Gomes CRA, Alves TRR, Ferraz YMM, Trivellato MF, de Jong D, Biller JD, Nicodemo D (2024) Bixafen, prothioconazole, and trifloxystrobin alone or in combination have a greater effect on health-related gene expression in honey bees from nutritionally deprived than from protein-supplemented colonies. **Insects** 15:523.

Keon JPR, White GA, Hargreaves JA (1991) Isolation, characterization and sequence of a gene conferring resistance to the systemic fungicide carboxin from the maize smut pathogen, *Ustilago maydis*. **Current Genetics** 19(6):475-481.

Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Dewenter SI, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings Biological sciences** 274(1608):303-313.

Klompen H, Lekveishvili M, Black 4th WC (2007) Phylogeny of parasitiform mites (Acari) based on rRNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 43:936-951.

Kogan M (1998) Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology** 43(3):243-270.

Kubik M, Nowacki J, Pidek A, Warakomksa Z, Michalczyk L, Goszczynski W (1999) Pesticide residues in bee products collected from cherry trees protected during blooming period with contact and systemic fungicides. **Apidologie** 30(6):521-532.

Le Conte Y, Ellis M, Ritter W (2010) *Varroa* mites and honey bee health: Can *Varroa* explain part of the colony losses? **Apidologie** 41(3):353-363.

Lima YS (2023) **O inseticida fipronil altera a expressão gênica em abelhas melíferas africanizadas**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Disponível em: <https://hdl.handle.net/11449/251222>

Lucas JA, Hawkins NJ, Fraaije BA (2015) The evolution of fungicide resistance. **Advances in Applied Microbiology** 90:29-93.

Lunardi JS (2022) **Efeito de herbicidas no comportamento e morfologia de abelhas *Apis mellifera* L.** Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/49865897-f935-4ca8-8233-46214f9c50d3/content>

Masterman R, Ross R, Mesce K, Spivak M (2001) Olfactory and behavioral response thresholds to odors of diseased brood differ between hygienic and non-hygienic honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Comparative Physiology** 187(6):441-452.

Mayack C, Naug D (2009) Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. **Journal of Invertebrate Pathology** 100(3):185 -188.

Michener CD (2003) The social behavior of the bees: A comparative study. **Annual Review of Entomology** 14(1):299-342.

Milani LF (2021) **Obtenção de própolis, potencial tecnológico e aplicações industriais**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química) Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/33900>

Milfont MO, Rocha EEM, Lima AON, Freitas BM (2013) Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. **Environmental Chemistry Letters** 11:335-341.

Mitchell MGE, Bennett EM, Gonzalez A (2015) Strong and nonlinear effects of fragmentation on ecosystem service provision at multiple scales. **Environmental Research Letters** 10:094014.

Nascimento RL (2023) **Comportamento higiênico e índice de infestação do *Varroa destructor* nas abelhas africanizadas no município de Santa Teresinha-Ba.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB). Disponível em: <http://ri.ufrb.edu.br/jspui/handle/123456789/3386>

National Honey Bee Health Stakeholder Conference Steering Committee (2012) **Report on the National Stakeholders Conference on Honey Bee Health. U.S.** Department of Agriculture Conference Steering Committee. Disponível em: <https://www.usda.gov/sites/default/files/documents/ReportHoneyBeeHealth.pdf>

Naug D, Gibbs A (2009) Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with *Nosema ceranae*. **Apidologie** 40:595-599.

Oerke EC (2006) Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science** 144:31-43.

Oliver R, Hewitt HG (2014) Fungicides in crop protection. **CABI** 2.

Ollerton J, Winfree R, Tarrant S (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos** 120(3):321-326.

Page RE, Metcalf RA (1984) A population investment sex ratio for the honey bee (*Apis mellifera* L). **The American Naturalist** 124(5):680–702.

Page RE, Peng CY-S (2001) Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. **Experimental Gerontology** 36 (4-6):695-711.

Panizzi AR (2013) History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology** 42:119-127.

Pascual U, Balvanera P, Díaz S, Pataki G, Roth E, Stenseke M, Watson RT, Dessane EB, Islar M, Kelemen E, et al. (2017) Valuing nature's contributions to people: The IPBES approach. **Current Opinion in Environmental Sustainability** 26-27:7-16.

Pasquale GD, Salignon M, Conte YL, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet JL, Alaux C (2013) Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? **PLoS One** 8(8):e72016.

Potts SG, Imperatriz-Fonseca V, Ngo HT, Aizen MA, Biesmeijer JC, Breeze TD, Dicks LV, Garibaldi LA, Hill R, Settele J, Vanbergen AJ (2016) Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature** 540:220–229.

Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery JD, Cohen A, Lim D, Joklik J, Cicero JM, Ellis JD, Hawthorne D, Vanengelsdorp D (2019) *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. **Biological Sciences** 116(5):1792-1801.

Reis MR, Reis AC, Zanatta M, Silva LHC, Siqueri FV, Silva JRC (2017) **Evolução da redução da sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas e estratégia para recuperar a eficiência do controle** 3.

Rueppell O, Aumer D, Moritz RFA (2016) Ties between ageing plasticity and reproductive physiology in honey bees (*Apis mellifera*) reveal a positive relation between fecundity and longevity as consequence of advanced social evolution. **Current Opinion in Insect Science** 16:64-68.

Russell PE (2005) A century of fungicide evolution. **The Journal of Agricultural Science** 143(1):11–25.

Sammataro D, Gerson U, Needham G (2000) Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. **Annual Review of Entomology** 45:519-548.

Santos PR (2020) **Polinização por abelhas *Apis mellifera* em soja transgênica e convencional**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Maringá Centro de Ciências Agrárias. Disponível em: <https://ppz.uem.br/trabalhos-de-conclusao/teses/2020/pedro-santos.pdf>

Schmehl DR, Teal PEA, Frazier JL, Grozinger CM (2014) Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (*Apis mellifera*). **Journal of Insect Physiology** 71:177-190.

Schulz DJ, Huang ZY, Robinson GE (1998) Effect of colony food shortage on the behavioral development of the honey bee, *Apis mellifera*. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 42:295–303.

Silva LA (2021) **Comportamento higiênico como resposta ao ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) no semiárido brasileiro**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/items/6f7a7b60-18fb-4caa-892f-a15178cc0f91>

Silva-Neto CM, Ribeiro ACC, Gomes FL, Neves JG, Melo APC, Calil FN, Nascimento AR, Franceschinelli EV (2018) Interaction between biological and chemistry fungicides and tomato pollinators. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas** 12(2):425–435.

Simon-Delso N, Martin GS, Bruneau E, Hautier L, Maus C (2018) Time-to-death approach to reveal chronic and cumulative toxicity of a fungicide for honeybees not revealed with the standard ten-day test. **Scientific Reports** 8:7241.

Slessor KN, Winston ML, Conte YL (2005) Pheromone communication in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Journal of Chemical Ecology** 31(11):2731-2745.

Sosa-Gómez DR (2005) **Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos.** Embrapa Soja. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/444633>

Souza ACP, da Silva RA, de Medeiros AC, de Oliveira Neto JN, de Almeida FFF, Gurjao TA, Maracaja PB (2023) O *Varroa destructor* e suas implicações nas abelhas *Apis melliferas*. **Revista COOPEX**, UNIFIP 14(1):163-191. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1152793/1/O-Varroa-destructor-e-suas-implicacoes.pdf>

Spivak M, Masterman R, Ross R, Mesce KA (2003) Hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera* L.) and the modulatory role of octopamine. **Journal of Neurobiology** 55(3):341-354.

Stein K, Coulibaly D, Stenchly K, Goetze D, Porembski S, Lindner A, Konaté S, Linsenmair EK (2017) Bee pollination increases yield quantity and quality of cash crops in Burkina Faso, West Africa. **Scientific Reports** 7:17691.

Tadei R, Domingues CEC, Malaquias JB, Camilo EV, Malaspina O, Silva-Zacarin ECM (2019) Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*. **Scientific Reports** 9:3277.

Tanaka ED, Hartfelder K (2004) The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes. **Arthropod Structure & Development** 33(4):431-442.

Tarpy DR, Nielsen R, Nielsen DI (2004) A scientific note on the revised estimates of effective paternity frequency in *Apis*. **Insectes Sociaux**, 51:203-204.

Tsvetkov N, Samson-Robert O, Sood K, Patel HS, Malena DA, Gajiwala PH, Maciukiewicz P, Fournier V, Zayed A (2017) Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. **Science** 356(6345):1395-1397.

Wang Y, Ma L, Zhang W, Cui X, Wang H, Xu B (2016) Comparison of the nutrient composition of royal jelly and worker jelly of honey bees (*Apis mellifera*). **Apidologie** 47(1):48-56.

Whitfield CW, Behura SK, Berlocher SH, Clark AG, Johnston JS, Sheppard WS, Smith DR, Suarez AV, Weaver D, Tsutsui ND (2006) Thrice out of Africa: Ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera*. **Science** 314(5799):642 -645.

Williams IH, Corbet SA, Osborne JL (1991) Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community. **Bee World**, 72(4):170-180.

Wilson EO (1971) **The insect societies.** Harvard University Press.

Wilson-Rich N, Dres ST, Starks PT (2008) The ontogeny of immunity: Development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of Insect Physiology**, 54(10-11):1392-1399.

- Wilson-Rich N, Spivak M, Fefferman NH, Starks PT (2009) Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. **Annual Review of Entomology** 54:405-423.
- Winfree R, Aguilar R, Vazquez DP, LeBuhn G, Aizen MA (2009) A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. **Ecology** 90(8):2068-2076.
- Winston ML (1987) **The Biology of the Honey Bee**. Harvard University Press.
- Winston ML (1991) **The biology of the honey bee**. Harvard University Press.
- Yang X, Cox-Foster DL (2005) Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. **Agricultural Sciences** 102(21):7470-7475.
- Zalucki MP, Adamson D, Furlong MJ (2009) The future of IPM: Whither or wither? **Australian Journal of Entomology** 48(2):85-96.
- Zambolim L, Venâncio WS, Oliveira SHF (2007) **Manejo da resistência de fungos a fungicida**. UFV 168.
- Zhang W (2018) Global pesticide use: Profile, trend, cost/benefit and more. **Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences** 8(1):1-27.
- Zhao C, Ang Y, Wang M, Gao C, Zhang K, Tang C, Liu X, Li M, Yang D, Meier R (2020) Contribution to understanding the evolution of holometaboly: Transformation of internal head structures during the metamorphosis in the green lacewing *Chrysopa pallens* (Neuroptera: Chrysopidae). **BMC Evolutionary Biology** 20:79.

## **CAPÍTULO 2 - Impacto do status nutricional e exposição a fungicida em colônias de abelhas melíferas utilizadas para polinizar soja**

**Resumo** - As abelhas melíferas (*Apis mellifera*) desempenham um papel fundamental na polinização agrícola, sendo essenciais para a produtividade de diversas culturas. No entanto, fatores como nutrição inadequada e exposição a insumos agrícolas podem comprometer o desempenho das colônias. Este estudo teve como objetivo investigar como diferentes condições nutricionais e a exposição a fungicidas influenciam o estoque de mel, pólen e cria, o comportamento higiênico, os índices de infestação por *Varroa destructor* e a contribuição das abelhas para a produtividade da soja. Foram utilizadas 12 colônias, divididas em dois grupos: colônias com suplementação alimentar (CSA) e colônias com restrição alimentar (CRA), por um período de sete semanas. Posteriormente, essas colônias foram alocadas em gaiolas contendo plantas de soja e tratadas ou não com fungicida. A suplementação alimentar teve um efeito positivo sobre o estoque de mel, enquanto a aplicação de fungicidas não influenciou essa variável. O comportamento higiênico das abelhas variou de acordo com o horário, mas não foi afetado pela dieta ou pelos fungicidas. As taxas de infestação por *Varroa destructor* também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. A presença das abelhas durante a polinização da soja contribuiu para o aumento da produção de grãos, independentemente da aplicação de fungicidas. A condição nutricional (CSA vs CRA) não afetou significativamente o desempenho das colônias na prestação de serviços ecossistêmicos. Por fim, observou-se que plantas visitadas por abelhas tiveram maior produtividade em comparação àquelas sem polinização entomófila, e que, nas condições avaliadas, o uso de fungicidas não comprometeu a produtividade agrícola.

**Palavras-chave:** *Apis mellifera*, comportamento higiênico, Fox Xpro®, *Varroa destructor*, produção agrícola, produção de mel

## **CHAPTER 2 - Impact of nutritional status and fungicide exposure on honey bee colonies used for soybean pollination.**

**ABSTRACT** - Honey bees (*Apis mellifera*) play a fundamental role in agricultural pollination and are essential for the productivity of various crops. However, factors such as inadequate nutrition and exposure to agricultural inputs can compromise colony performance. This study aimed to investigate how different nutritional conditions and exposure to fungicides influence honey, pollen and brood stocks, hygienic behavior, *Varroa destructor* infestation rates and the contribution of bees to soybean productivity. Twelve colonies were used, divided into two groups: colonies with food supplementation (CSA) and colonies under food restriction (CRA), for a period of seven weeks. These colonies were then placed in cages containing soybean plants and treated or not with fungicide. Food supplementation had a positive effect on honey stock, while fungicide application did not influence this variable. The bees' hygienic behavior varied according to the time of day, but was not affected by diet or fungicides. *Varroa destructor* infestation rates also showed no significant differences between treatments. The presence of bees during soybean pollination contributed to an increase in grain yield, regardless of fungicide application. The nutritional condition (CSA vs CRA) did not significantly affect the performance of the colonies in providing ecosystem services. Finally, it was observed that plants visited by bees had higher productivity compared to those without entomophilous pollination, and that, under the conditions evaluated, the use of fungicides did not compromise agricultural productivity.

**Keywords:** Agricultural production, *Apis mellifera*, Fox Xpro®, honey production, hygienic behavior, *Varroa destructor*

## 2.1 Introdução

A intensificação das práticas agrícolas, com destaque para o aumento do uso agrotóxicos, tem causado impactos significativos na biodiversidade e na saúde de polinizadores, particularmente das abelhas melíferas (*Apis mellifera*). A redução da diversidade e abundância de plantas com flores devido à ocupação extensiva do solo prejudica a disponibilidade de recursos florais, essenciais para a nutrição e o desenvolvimento dessas abelhas (Goulson et al., 2015). Essa perda de habitats afeta diretamente a capacidade das colônias de sustentar suas atividades e compromete os serviços ecossistêmicos que elas proporcionam, como a polinização, primordial para a produtividade agrícola (Blaauw e Isaacs, 2014).

Dentre os desafios enfrentados pelas abelhas no ambiente agrícola, a exposição a fungicidas se destaca como um fator crítico. Produtos contendo bixafem, prothioconazol e trifloxistrobina, amplamente utilizados no manejo de doenças fúngicas em culturas como a soja, têm demonstrado potenciais efeitos adversos para abelhas. Esses compostos podem induzir estresse oxidativo e afetar processos bioquímicos essenciais, como a produção de ATP, comprometendo a saúde e a longevidade das abelhas (Fidelis, 2024; Alves et al., 2024). A vulnerabilidade é amplificada em colônias submetidas à condição de restrição alimentar, com a carência nutricional reduzindo a capacidade das abelhas de lidar com outros estressores ambientais, incluindo a toxicidade de agrotóxicos (Naug e Gibbs, 2009).

Por outro lado, estratégias de suplementação nutricional têm demonstrado benefícios significativos para a resiliência das colônias frente às adversidades. A oferta de dietas nutricionalmente equilibradas pode fortalecer o sistema imunológico das abelhas, melhora o desenvolvimento das crias e mitigar os impactos negativos causados por fungicidas e outros estressores ambientais (Schulz et al., 1998). Estudos recentes evidenciam que a suplementação alimentar aumentou a atividade antioxidante basal, porém não foi eficaz na proteção das abelhas contra a toxicidade dos fungicidas (Freitas et al., 2024).

Neste contexto, a relação entre nutrição das colônias, uso de fungicidas e polinização da soja é um tema central para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação alimentar e da aplicação de fungicidas em plantas de soja sobre o desenvolvimento

das colônias de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e o impacto sobre a produção de grãos de soja em plantas polinizadas por estas abelhas.

## 2.2 Material e métodos

### 2.2.1 Local e período do experimento

As colônias de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e o cultivo das plantas de soja foram conduzidos na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), no Campus de Dracena, estado de São Paulo. Este local está situado em latitude 21°27'35" S, longitude 51°33'28" O e a uma altitude de 421 metros (Figuras 1 e 2). O experimento foi desenvolvido entre agosto de 2023 e junho de 2024, abrangendo todas as etapas necessárias para a coleta de dados e análise dos resultados.



**Figura 1.** O mapa destaca o estado de São Paulo, com a localização do município de Dracena, onde está o Campus da UNESP. Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Dracena>, 2025.



**Figura 2.** Área do experimento na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP/FCAT), Campus de Dracena, São Paulo, mostrando a localização do cultivo de soja e do apiário experimental. Fonte: Google Earth, 2025.

### 2.2.2 Abelhas e sua alimentação

Foram utilizados 12 núcleos de colmeias do modelo Langstroth, cada um com capacidade para acomodar 5 quadros, contendo colônias de abelhas melíferas africanizadas (*Apis mellifera*). As colônias foram divididas em dois grupos experimentais: colônias com suplementação alimentar (CSA) e colônias com restrição alimentar (CRA). Duas semanas antes do início dos manejos alimentares, todas as colônias foram padronizadas para conter dois quadros com cria aberta, dois com cria fechada e um quadro com alimento (mel), totalizando 5 quadros, de modo a garantir que todas as colônias estivessem em condições semelhantes.

Durante um período de sete semanas, as colônias do grupo CSA tiveram livre acesso ao campo para coleta de alimentos e receberam suplementação semanal composta por 500 g/L de xarope energético, preparado com água e sacarose

comercial em proporções iguais (1m/1m) (Figura 3A), além de 100 g de "bife proteico" (Figura 3B). O bife proteico foi elaborado a partir da mistura de pólen apícola e mel na proporção de 4m/1m. O pólen foi obtido diretamente do apiário experimental, sendo colhido, congelado e, posteriormente, macerado e quebrado os grãos de pólen com o auxílio de uma colher de pau em uma bacia plástica de 8L. O mel, também coletado do apiário experimental, foi adicionado gradualmente ao pólen enquanto a mistura era mexida, depois de todo adicionado, era mexido atngir a consistência de pasta. A mistura foi transferida para uma panela e então pasteurizada em banho-maria a 60-65 °C por cerca de 10 minutos, seguindo as recomendações de Scepankova et al. (2024). Após 30 minutos de resfriamento à temperatura ambiente, a pasta foi fracionada em porções de 100 g, armazenadas em sacos plásticos incolores (15 cm x 12 cm). Cada porção foi espalhada com o auxílio de uma régua para obter o formato de um "bife" de espessura de 3mm e, em seguida, armazenada no freezer até o momento do uso.

Para o fornecimento, a tampa da colmeia foi removida, entre ela e os quadros há um espaço. Nesse espaço, o bife proteico foi colocado. Para as abelhas terem acesso, o saco plástico que envolvia o bife foi previamente cortado nas extremidades no laboratório e aberto no apiário na hora de ser fornecido, sendo aberto de forma que a parte exposta ficasse voltada para cima e o plástico voltado para baixo, não deixando o bife cair e permitindo que as abelhas tivessem acesso fácil por cima ao alimento.



**Figura 3.** Colmeias povoadas com colônia que recebeu suplementação alimentar (CSA), recebendo xarope por meio de alimentador Boardman (A) e bife proteico disponibilizado sobre os quadros de cria (B).

Para o grupo CRA, não foi fornecida suplementação alimentar. Nessas colmeias, foi instalada um coletor de pólen adaptado para núcleo. Um coletor de pólen para alvado para colmeias padrão Lonngstroth com tela coletora em acrílico com furos de 4,6~4,7 mm de espessura, com gaveta com fundo de madeira foi cortado ao meio com Serra Tico Tico Estt 550 127V Wap e adaptado para núcleo (Figura 4A e B). Esse coletor retia parcialmente as bolotas de pólen coletadas pelas abelhas ao retornarem à colmeia (Figura 4C e D). As bolotas que ficavam depositadas na gaveta, foram transferidas para um pote de plástico descartável redondo de tampa transparente de 500ml. O pólen foi pesado diariamente.



**Figura 4.** Colmeia com colônias com alimentação restrita (CRA): coletor de pólen para alvado para colmeias padrão Lonngstroth (A) coletor de pólen adaptado para núcleo (B) núcleo com coletor de pólen (A) e gaveta com pólen apícola sendo colhido(B).

O manejo nutricional foi iniciado após a padronização populacional das colônias, interrompido durante o período de permanência nas gaiolas de polinização de soja e reestabelecido na etapa final, quando as colmeias foram levadas de volta ao apiário.

### **2.2.3 Registro do peso das colônias de *Apis mellifera***

Ao longo de 07 semanas de manejo nutricional, 12 colônias de *Apis mellifera* foram mantidas no apiário experimental. Durante esse período, todas as colônias foram pesadas semanalmente utilizando uma balança eletrônica digital da marca Suryha, com capacidade de até 100 kg (Figura 5A e B). No grupo das CSA, o alimentador Boardman que se usava para alimentar as colônias foi removido antes de cada pesagem, e o peso da colmeia foi desconsiderado. Já no grupo das CRA, além do peso da colmeia, o peso do coletor de pólen também foi descontado, de modo a obter o peso líquido de cada colônia, garantindo que apenas o efeito do manejo nutricional fosse observado.

Na segunda etapa do experimento, as 12 colmeias foram transferidas para gaiolas instaladas sobre plantas de soja, onde permaneceram por 3 semanas. Durante esse período, as colônias foram analisadas em relação ao peso, levando em consideração os impactos combinados da restrição alimentar e da exposição ao fungicida.

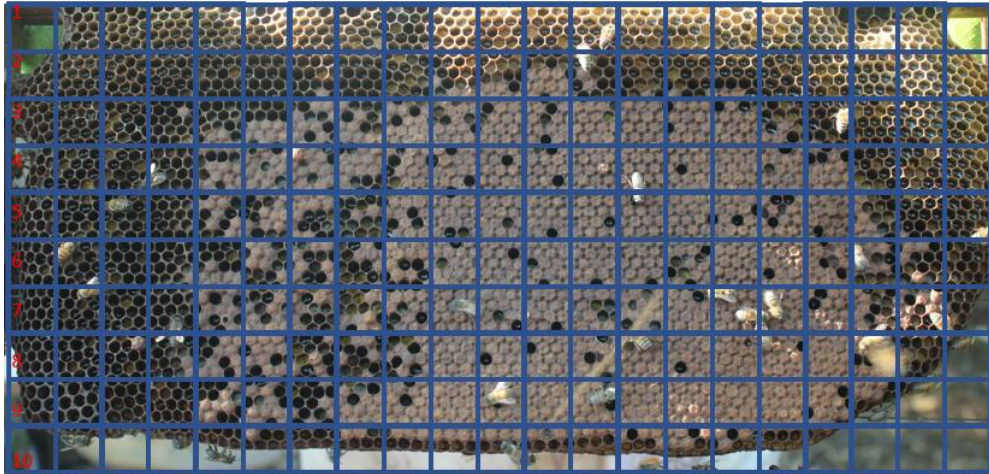
Dessa forma, o estudo avançou para a terceira etapa, com a formação de quatro grupos experimentais após a retirada das gaiolas. Cada grupo foi composto por 3 colmeias, distribuídas da seguinte maneira: CSA F+ (colônias com suplementação alimentar expostas ao fungicida), CSA F- (colônias com suplementação alimentar sem exposição ao fungicida), CRA F+ (colônias com restrição alimentar expostas ao fungicida) e CRA F- (colônias com restrição alimentar sem exposição ao fungicida).



**Figura 5.** Balança eletrônica (A) e registro de peso da colmeia do grupo CRA (B).

#### **2.2.4 Desenvolvimento populacional por meio do mapeamento dos quadros das colônias de abelhas melíferas**

Os quadros com os favos das colônias foram mapeados sistematicamente para análise em quatro ocasiões: três avaliações durante o manejo nutricional, realizado antes da introdução das colmeias nas gaiolas de polinização, e uma avaliação após a retirada das colmeias das gaiolas. Para esse procedimento, foram necessárias duas pessoas: uma responsável por segurar o quadro na mesma posição em que ele se encontra na colmeia, inclinando-o a um ângulo de  $120^\circ$ , enquanto a outra se posicionava a 1 metro de distância e fotografava o quadro com o favo, tanto na frente quanto no verso, utilizando uma câmera fotográfica Canon EOS T2i. As imagens obtidas foram organizadas em apresentações no software PowerPoint, onde cada quadro com favo foi colocado em uma malha de quadrados de 2 x 2 cm (Figura 6). Em seguida, foi realizada a contagem dos quadrados correspondentes às áreas ocupadas por crias, mel e pólen, conforme a metodologia descrita por Al-Tikrity et al. (1971). Com base nesses registros, foi possível calcular as áreas totais ocupadas por cada componente analisado (cria, mel e pólen), expressas em  $\text{cm}^2$ .



**Figura 6.** Favo dividido em quadrados de 2x2 cm para determinar as áreas ocupadas com cria e alimento.

### 2.2.5 Determinação dos níveis de infestação de abelhas adultas com *Varroa destructor*

No mesmo dia em que foi realizado o mapeamento dos quadros, também foi realizada a coleta das abelhas adultas. A contagem de ácaros nas operárias adultas seguiu o método descrito por Stort et al. (1981). Para isso, um número indeterminado de abelhas foi coletado das colônias (Figura 7A). A coleta foi feita removendo-se um favo com abelhas aderidas da colmeia, o qual foi chacoalhado dentro de um funil de alumínio com 34 cm de altura, 30 cm de diâmetro externo na boca e 5,9 cm de diâmetro externo no bico. O funil foi direcionado para um pote plástico descartável redondo de 500 ml, com tampa transparente, assim que caísse as abelhas foi imediatamente fechado.

Os potes contendo as abelhas foram levados para o laboratório e ao freezer por 5 minutos, a fim de anestesiá-las. Em seguida, foi adicionada uma solução composta por álcool 70% e detergente, na proporção de 1:0,1 (Figura 7B). Os potes com as abelhas e a solução passaram por agitação constante por 30 minutos em um agitador modelo Kline. Após esse período, o conteúdo dos potes foi peneirado através de uma tela galvanizada com malha 14 Fio 0,25 (1m x 1m), adaptada a um pote plástico de 15 cm de altura e 12 cm x 12 cm de boca. As abelhas permaneceram sobre a tela, enquanto os ácaros foram separados e ficaram retidos no fundo do pote (Figura 7C).

Para a contagem, foram formados grupos de 10 abelhas, e os ácaros visualizados no fundo do pote foram contados. Com esses dados, foi possível calcular a taxa de infestação (Figura 7D).

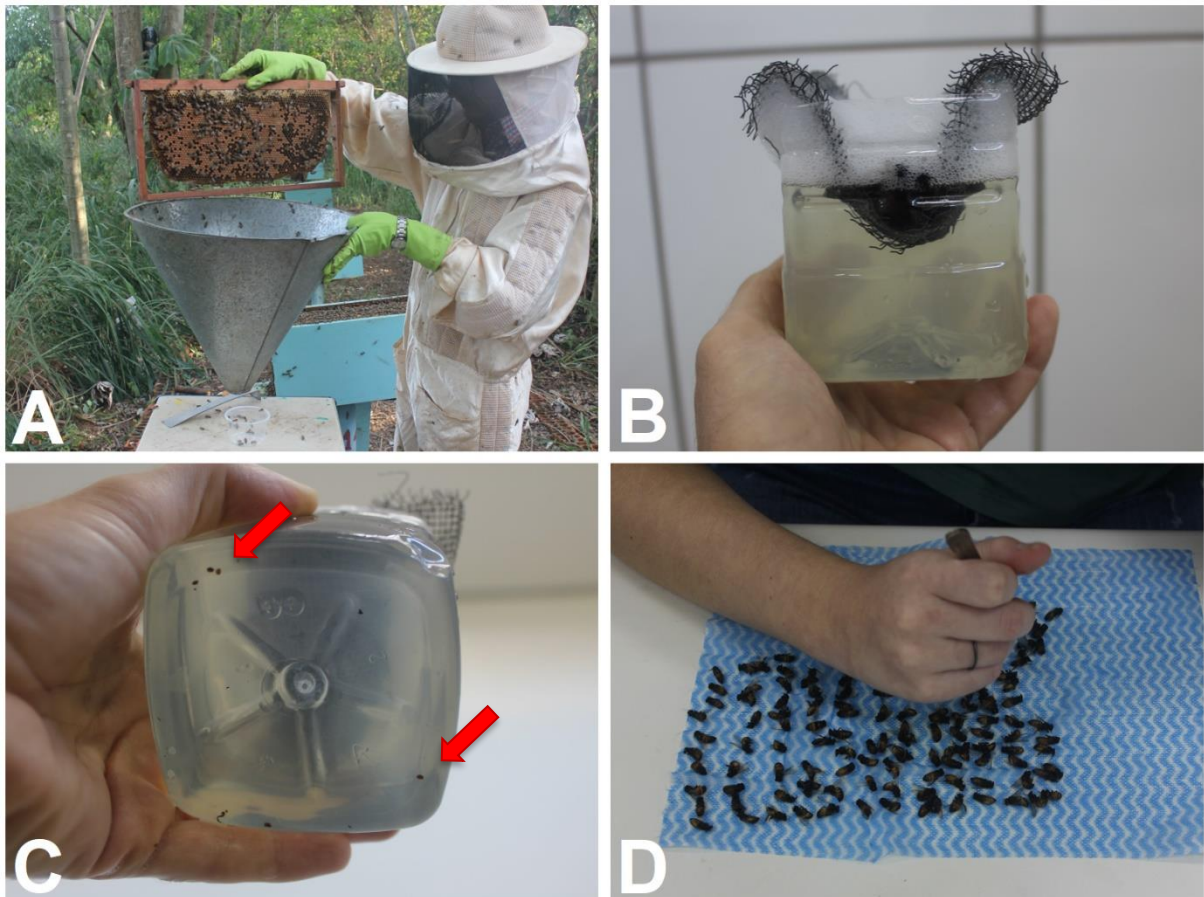
A taxa de infestação nas abelhas adultas (TIA) foi calculada utilizando a fórmula:

$$TIA (\%) = [(NAC/NAbc)] \times 100$$

Onde:

NAC = Número de ácaros contados;

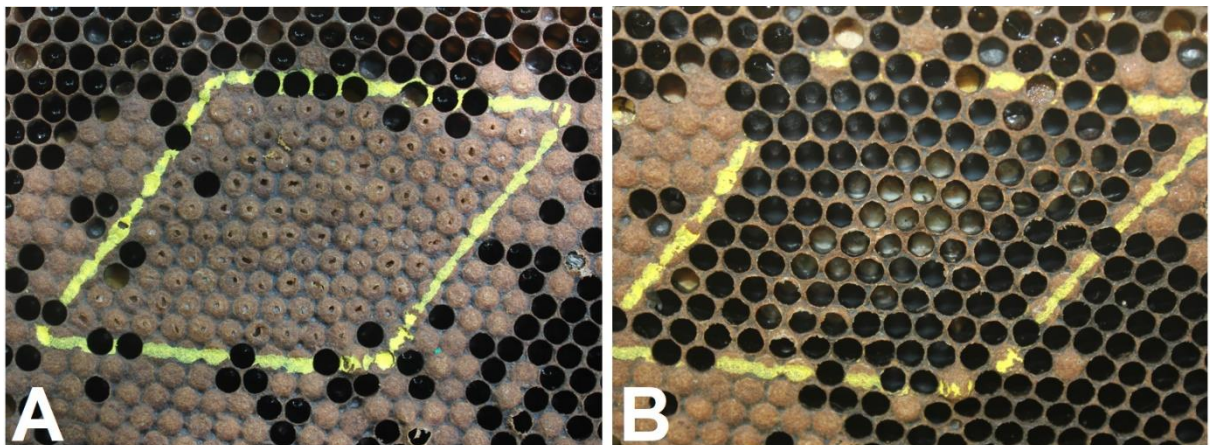
NAbC = Número de abelhas contadas.



**Figura 7.** Etapas do processo de contagem de ácaros em abelhas adultas: coleta das abelhas (A); separação dos ácaros por peneiração (B); ácaros decantados no fundo do recipiente (C); e contagem das abelhas coletadas (D).

### 2.2.6 Avaliação do comportamento higiênico nas colônias de abelhas melíferas

Em um quadro com pupas de cada colmeia, foram selecionados 100 alvéolos, os quais foram demarcados o perímetro com caneta Posca Pc-5m uni-ball amarelo e perfurados utilizando uma agulha descartável hipodérmica de 25x8 mm com objetivo de lesionar a cria (Figura 8A). Este procedimento foi realizado quatro vezes, nas mesmas semanas de realização dos mapeamentos e da determinação das taxas de infestação com *Varroa destructor*. Após 12h da perfuração dos alvéolos, foi realizada a contagem do número de células desoperculadas e de pupas removidas pelas operárias a cada intervalo de 12 horas (Figura 8B). As observações foram conduzidas até que todas as pupas fossem removidas ou até o limite de 36 horas após a realização das perfurações, conforme metodologia descrita por Nicodemo et al. (2013).



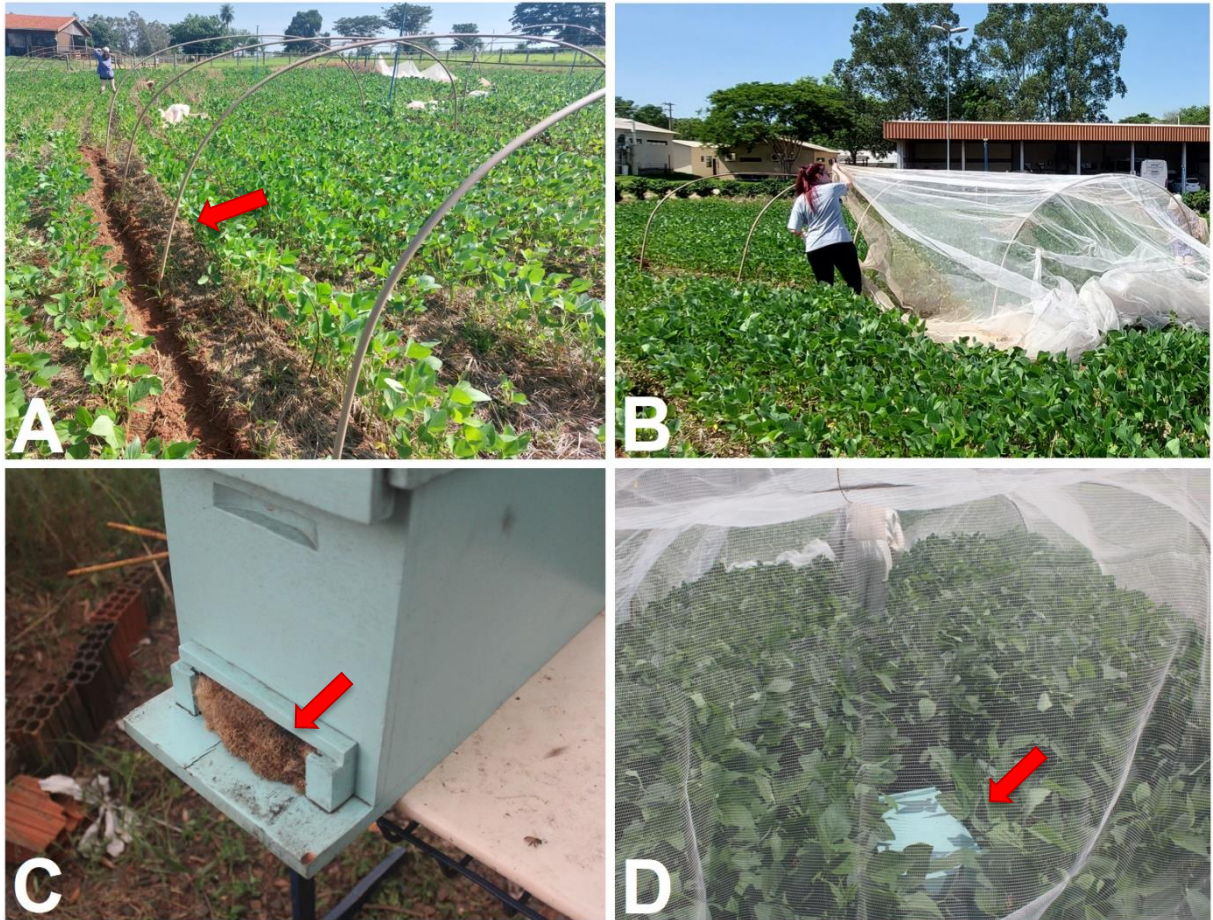
**Figura 8.** Alvéolos perfurados com agulha descartável (A) e células desoperculadas pelas operárias (B).

### 2.2.7 Ensaio de polinização da cultura da soja com abelhas melíferas

A semeadura da soja da cultivar 95Y95IPRO foi realizada em uma área de 3.000 m<sup>2</sup> localizada atrás do laboratório de ecologia e insetos úteis na UNES/FCAT, com densidade de plantio de 255 mil plantas por hectare, em novembro de 2023. Sessenta dias antes do plantio, amostras de solo foram coletadas para análise, visando à correção do pH e à adequação da disponibilidade de nutrientes de forma equilibrada, conforme as recomendações de Raij et al. (1997). Para suprir as necessidades hídricas da cultura, foi instalado um sistema de irrigação na área experimental.

Considerando o ciclo de desenvolvimento da soja (Zanon et al., 2015), o manejo alimentar das 12 colônias de abelhas foi iniciado em outubro, aproximadamente nove semanas antes do início previsto da fase de floração (R1). Em dezembro, em R1, estágio que aparece a primeira flor aberta na haste principal, foram montadas 18 gaiolas experimentais, construídas com tubos de PVC com dimensões de 6,0 m de comprimento, 4,0 m de largura e 2,0 m de altura (Figura 9A). Além disso, seis parcelas com as mesmas dimensões das gaiolas foram demarcadas com varetas de fibra para representar áreas de polinização livre.

As gaiolas foram revestidas com tela de poliamida branca, com malha de 1 mm, suficiente para impedir a entrada e saída de insetos, garantindo o isolamento experimental (Figura 9B). Quando a soja atingiu o estágio de plena floração (R2), com flores abertas em, pelo menos, dois dos nós superiores, as colmeias contendo as colônias de abelhas submetidas ao manejo nutricional foram transportadas para a área experimental após as 19h, momento em que as abelhas estavam recolhidas dentro das colmeias. Estas foram fechadas com um pedaço de buxa (Figura 9C) e, com o auxílio da equipe da fazenda e de uma caminhonete da universidade, o transporte foi realizado até as gaiolas do experimento, onde as colmeias foram instaladas individualmente em cada gaiola (Figura 9D). Esse procedimento garantiu o controle das condições de polinização para a análise dos diferentes tratamentos. Não foram introduzidas colmeias em seis gaiolas, que formaram o grupo controle, onde as parcelas permaneceram sem polinizadores.



**Figura 9.** Montagem das gaiolas nas parcelas experimentais com tubos de PVC (A) revestindo a gaiola com tela de poliamida branca com malha de 1 mm (B), fechando as colmeias com um pedaço de buxa (C) e disposição da colmeia dentro da gaiola (D).

No dia seguinte à introdução das colmeias nas gaiolas, foi realizado o tratamento das plantas com fungicida. Para cada parcela (CSA, CRA, sem abelhas e livre polinização), três áreas foram tratadas com o fungicida Fox® Xpro e outras três áreas não foram tratadas (controle).

O fungicida Fox® Xpro foi fracionado utilizando uma pipeta, que foi descartada juntamente com o produto em cada garrafa PET de 450 ml. Em seguida, foi adicionada água desionizada até completar 450 ml, e a mistura foi agitada até atingir uma solução de cor leitosa e homogênea, resultando em 450 ml de calda contendo 1,6 ml de produto fracionado. A dose utilizada foi de 0,5 L/ha em uma calda de 144 L/ha, conforme as recomendações do fabricante para o controle de oídio (*Microsphaera difusa*). Utilizando um pulverizador de alta pressão PET Guarany. A aplicação ocorreu às 10h00 nas parcelas selecionadas, tanto nas gaiolas quanto nas áreas de

polinização livre, quando as abelhas estavam ativas, voando e forrageando as flores de soja. O produto foi aplicado tanto sobre as plantas de soja quanto sobre a colmeia. Durante o processo, foi utilizado Equipamento de Proteção Individual (EPI), incluindo macacão de apicultor, máscara descartável, luvas nitrílicas e óculos de proteção, garantindo a segurança do operador.

### **2.2.8 Produção de grãos de soja**

Ao final do ciclo da soja, foi realizada a colheita dos grãos tanto nas gaiolas quanto nas parcelas abertas, com o objetivo de mensurar a produção total de grãos e o peso de 100 grãos. O peso dos grãos foi ajustado para um teor de umidade padrão de 13%, utilizando um analisador de umidade e impurezas da marca Gehaka, modelo G650i.

### **2.2.9 Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas para avaliar os efeitos do manejo nutricional, da aplicação de fungicida e da interação entre esses fatores sobre as variáveis estudadas, por meio do software SAS (2020), utilizando procedimentos ajustados para cada variável.

O peso das colônias foi analisado por meio de regressões específicas para três etapas experimentais: antes da introdução nas gaiolas (Etapa 1), durante a permanência nas gaiolas (Etapa 2) e após a retirada das colmeias das gaiolas (Etapa 3). Na Etapa 1, os tratamentos consistiram do manejo nutricional das colônias, divididas em CSA e CRA. Nas etapas 2 e 3, foram avaliados os efeitos de nutrição e exposição ao fungicida. Modelos lineares mistos foram utilizados, com efeitos fixos para os tratamentos e etapas e efeitos aleatórios para as repetições.

A análise do mapeamento dos quadros das colônias foi realizada em duas etapas. Na fase inicial, antes da introdução das colmeias nas gaiolas de polinização, foram aplicados modelos de regressão e efeitos mistos, considerando os tratamentos nutricionais (CSA e CRA). Para a taxa de infestação por *Varroa destructor*, na Etapa 1, utilizou-se também um modelo de efeitos mistos para comparar os tratamentos CSA e CRA.

Para a análise final de mapeamento e infestação por *Varroa*, o teste t pareado foi realizado para investigar o comportamento higiênico e a presença de *Varroa* nas colônias de abelhas melíferas, considerando os efeitos da alimentação. A análise estatística foi realizada para observar os efeitos da suplementação alimentar (CSA) e da restrição alimentar (CRA) sobre o comportamento higiênico nas colônias de abelhas melíferas, tanto em relação ao comportamento higiênico quanto à presença do ácaro *Varroa*. Esses fatores foram analisados sob a influência de fungicidas de tripla ação e em condições de polinização de plantas de soja.

O teste t pareado, aplicado no mapeamento dos dados antes e depois da utilização das colônias para serviços de polinização, permitiu verificar os efeitos da alimentação nas colônias. A análise estatística foi processada utilizando o Sistema de Análise Estatística SAS 9.4, SAS OnDemand for Academics.

O comportamento higiênico foi analisado com um modelo de efeitos mistos no procedimento PROC MIXED do SAS. Antes da aplicação do fungicida, os fatores nutrição (CSA e CRA), dia (0, 28, 48) e hora (0, 12, 24, 36) foram incluídos como efeitos fixos, juntamente com suas interações. Após a aplicação do fungicida, a análise considerou apenas os efeitos de nutrição e fungicida, desconsiderando o efeito "dia". Os parâmetros de variância foram estimados pelo método de Máxima Verossimilhança Restrita (REML), e as médias ajustadas dos mínimos quadrados (LSMeans) foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

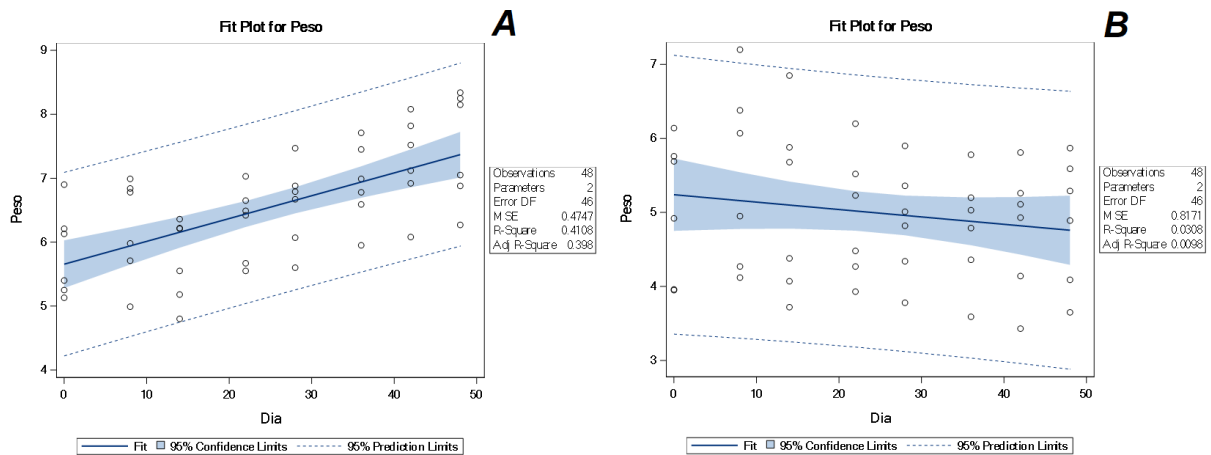
Para a produção total de grãos e o peso de 100 grãos, os dados foram transformados logaritmicamente (log) para atender aos pressupostos de normalidade. O modelo linear misto incluiu os efeitos fixos de tipos de polinização e aplicação de fungicida, além de suas interações. Repetições e interações entre tipos de polinização e repetições foram modeladas como efeitos aleatórios. A estrutura de covariância composta simétrica (CS) foi usada para ajustar medições repetidas em parcelas.

## **2.3 Resultados**

### **2.3.1 Peso das colônias**

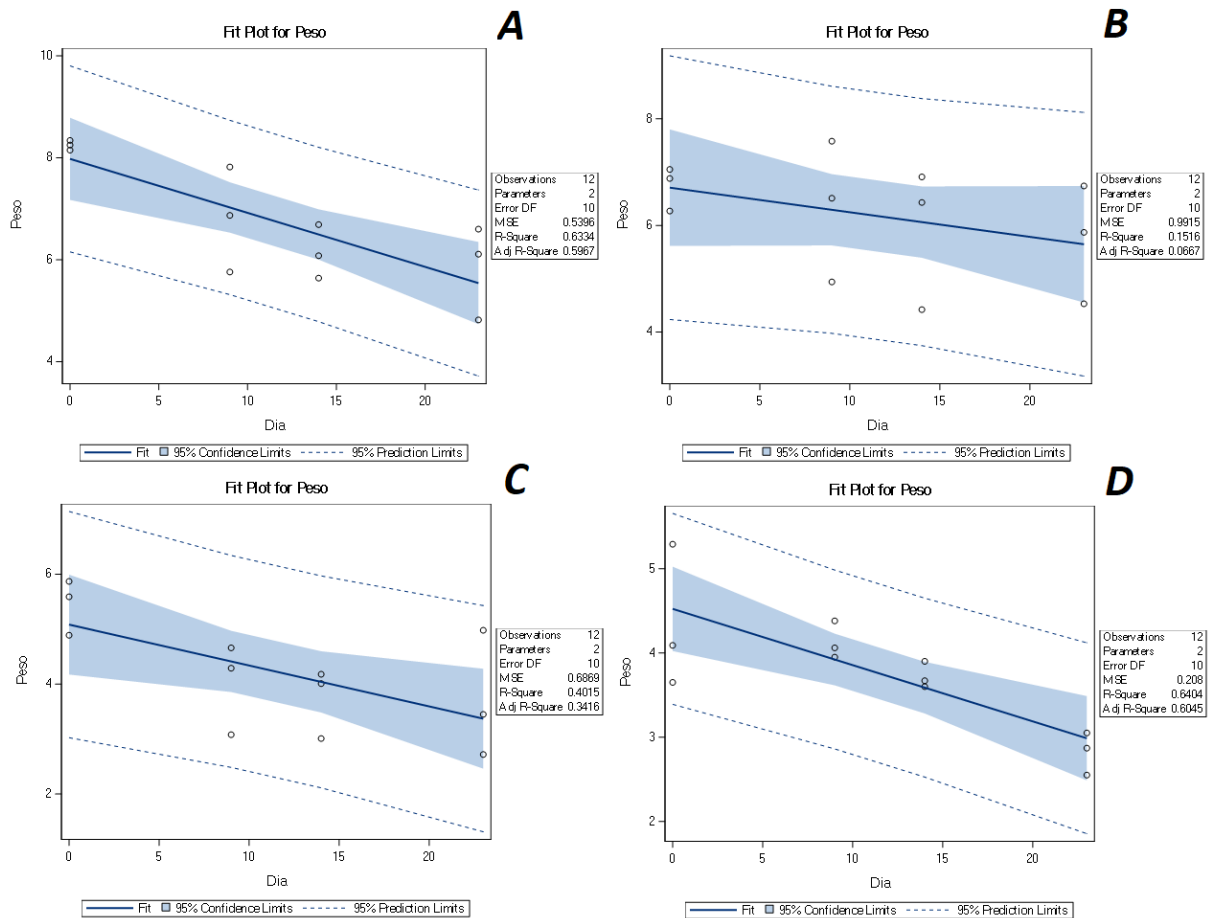
O peso das colônias do grupo CSA aumentou ao longo do período de manejo nutricional ( $p < 0,05$ ), o qual pode ser estimado em kg, a partir da seguinte equação:  $5,66 + 0,04x$ , sendo  $x$  igual ao número de dias do período de suplementação

nutricional (Figura 10A). Esse resultado indica uma relação positiva entre o tempo e o peso das colônias sob manejo de suplementação nutricional. Já o peso das colônias do grupo CRA apresentou uma ligeira tendência de redução ao longo dos dias, que não foi estatisticamente evidenciada ( $p > 0,05$ ) (Figura 10B). Sendo assim, considera-se o que peso de cada colônia, com média de  $5,24 \pm 0,24$  kg, manteve-se constante durante o período de restrição alimentar.



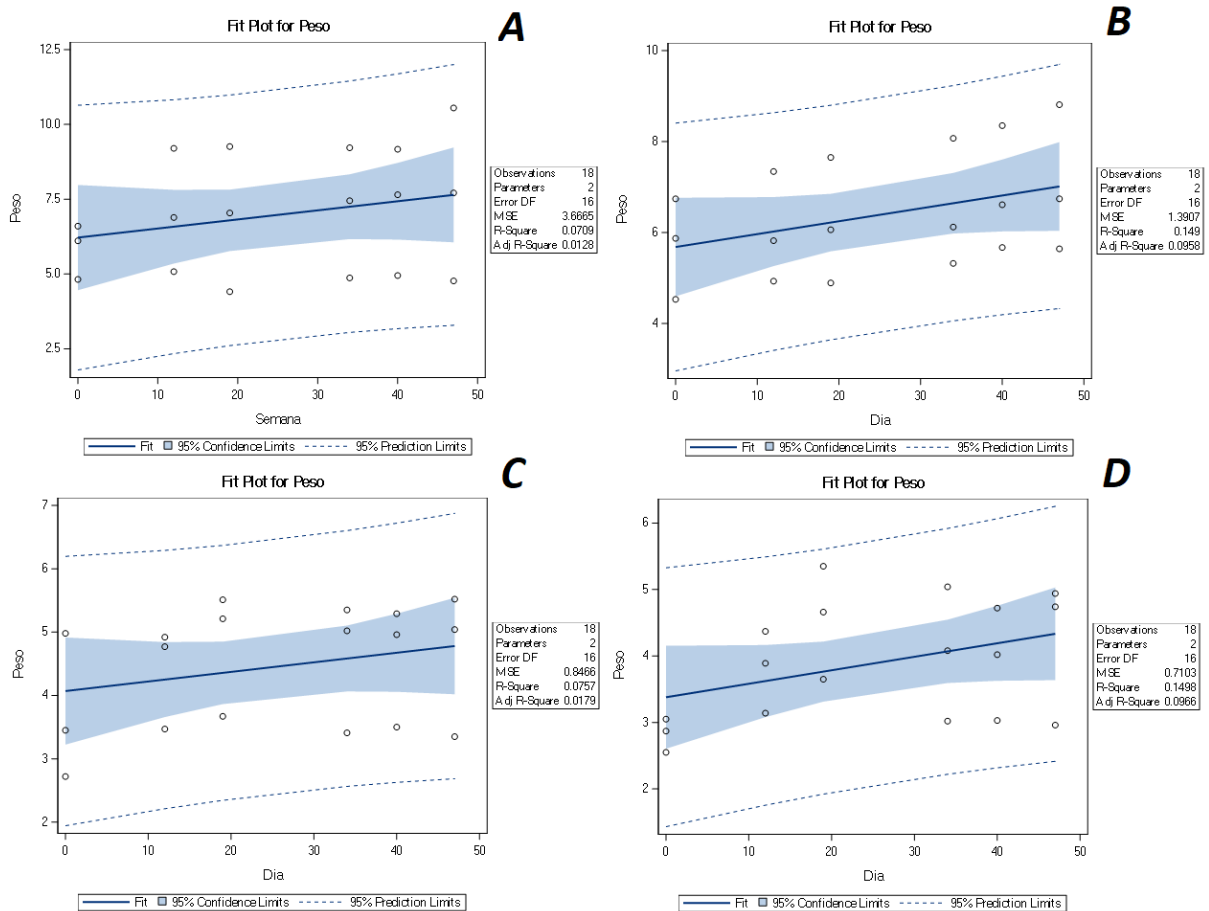
**Figura 10.** Efeito do manejo nutricional no peso das colônias de abelhas melíferas ao longo do tempo: (A) Colônias com suplementação alimentar (CSA); (B) Colônias com restrição alimentar (CRA).

No período em que permaneceram nas gaiolas de polinização, com plantas de soja tratadas ou não com o fungicida Fox Xpro O peso de todas as colônias foi reduzido (Figura 11). O peso do grupo das CSA instaladas em gaiolas com ou sem a aplicação de fungicida nas plantas de soja pode ser estimado, respectivamente, a partir das seguintes equações:  $7,98 - 0,11x$  e  $6,71 - 0,05x$ , sendo  $x$  igual ao número de dias de permanência das colônias dentro das gaiolas. Para o grupo das CRA, em gaiolas com plantas tratadas ou não com fungicida, respectivamente, o peso pode ser estimado da seguinte forma:  $5,08 - 0,08x$  e  $4,52 - 0,07x$ , sendo  $x$  igual ao número de dias.



**Figura 11.** Evolução do peso das colônias de abelhas em função do tempo e dos tratamentos: (A) colônias com suplementação alimentar e aplicação do fungicida Fox Xpro®; (B) colônias com suplementação alimentar sem aplicação do fungicida; (C) colônias com restrição alimentar e aplicação do fungicida Fox Xpro®; (D) colônias com restrição alimentar sem aplicação do fungicida.

Após a remoção das gaiolas, os grupos CSA F+ e CSF-, bem como os grupos CRA F+ e CRA F-, não apresentaram variações significativas. No grupo CSA F+ (Figura 12A), a média foi de 6.98611 com erro médio quadrático de 1.91480 ( $p > 0,2856$ ); no grupo CSF- (Figura 12B), a média foi de 6.39778 com erro médio quadrático de 1.17929 ( $p > 0,1136$ ); no grupo CRA F+ (Figura 12C), a média foi de 4.45222 com erro médio quadrático de 0.92011 ( $p > 0,2692$ ); e no grupo CRA F- (Figura 12D), a média foi de 3.89333 com erro médio quadrático de 0.84281 ( $p > 0,1126$ ). Esses resultados indicam que não houve diferenças significativas entre os grupos ao longo do período analisado.

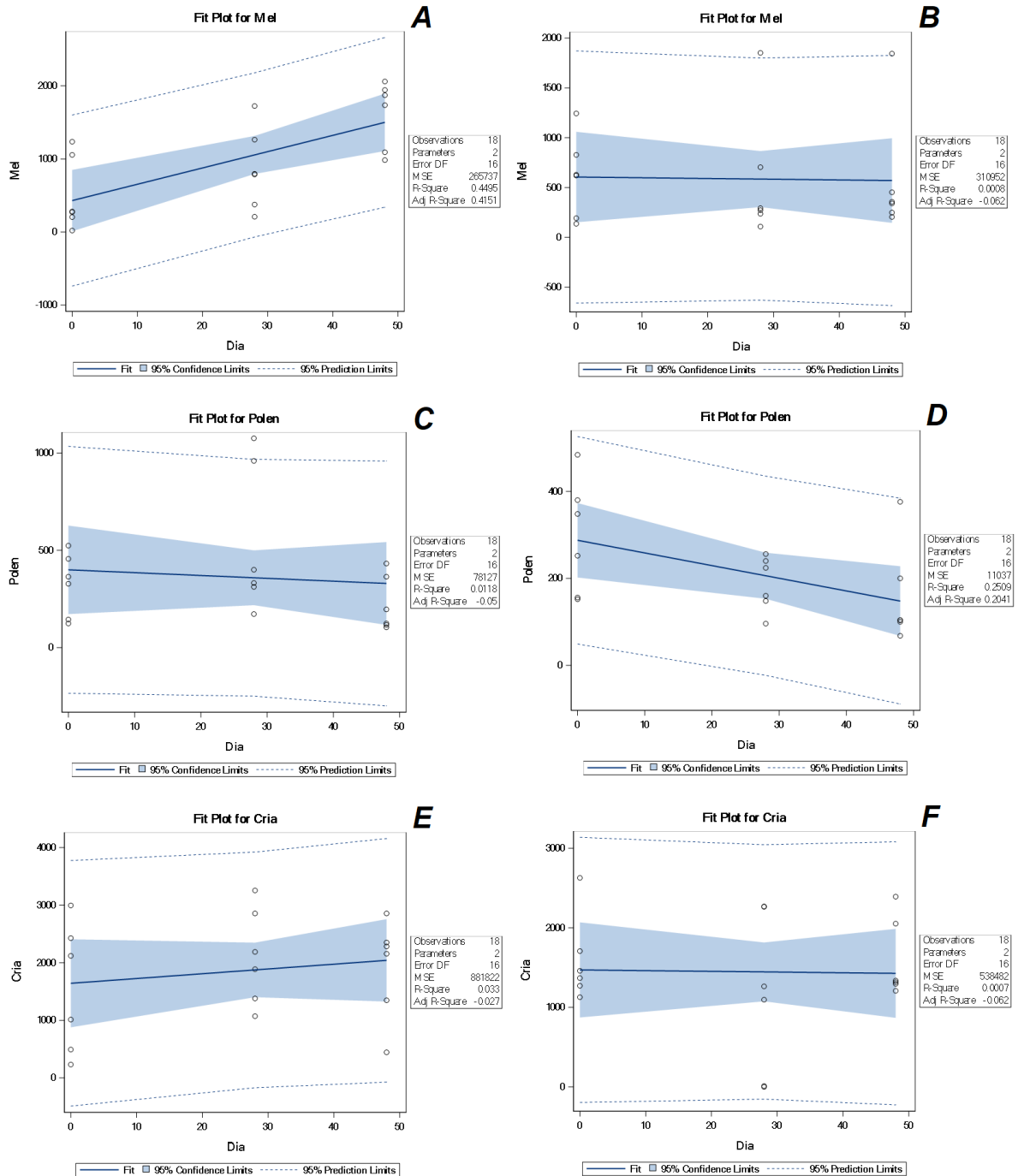


**Figura 12.** Condição do peso das colônias de abelhas em função do tempo e dos tratamentos: (A) colônias com suplementação alimentar e aplicação do fungicida Fox Xpro®; (B) colônias com suplementação alimentar sem aplicação do fungicida; (C) colônias com restrição alimentar e aplicação do fungicida Fox Xpro®; (D) colônias com restrição alimentar sem aplicação do fungicida.

### 2.3.2 Evolução da área de cria e alimento das colônias de abelhas melíferas

Ao analisar os dados, observa-se um aumento gradual na área em cm<sup>2</sup> de mel ao longo do tempo para as CSA (Figura 13A), com valor de  $p > 0,0023$ , indicando que o modelo de regressão explicou cerca de 41% da variação nos dados. Em contrapartida, nas CRA, não houve significância de variação na área de mel ( $p > 0,9139$ ) (Figura 13B). A área de pólen nas colônias CSA manteve-se estável ao longo do tempo, sem apresentar relação significativa ( $p > 0,6683$ ) (Figura 13C). Já nas colônias CRA, verificou-se redução na área de pólen ao longo dos dias ( $p > 0,0342$ ), indicando que o modelo explicou moderadamente a variação observada (Figura 13D). As áreas de cria nas colônias CSA também não demonstraram variação significativa

ao longo do tempo, com a média 1853.33333 erro médio quadrático 939.05380 ( $p > 0,4709$ ) (Figura 13E). De forma semelhante, nas colônias CRA, não foi identificada relação significativa, com a média 1448.22222 erro médio quadrático 733.81326 ( $p > 0,9197$ ) (Figura 13F).



**Figura 13.** Efeito do manejo nutricional nos grupos com suplementação (CSA) (A: mel; C: pólen; E: cria) e nos grupos com alimentação restrita (CRA) (B: mel; D: pólen; F: cria) sobre o desempenho das colônias, em  $\text{cm}^2$ .

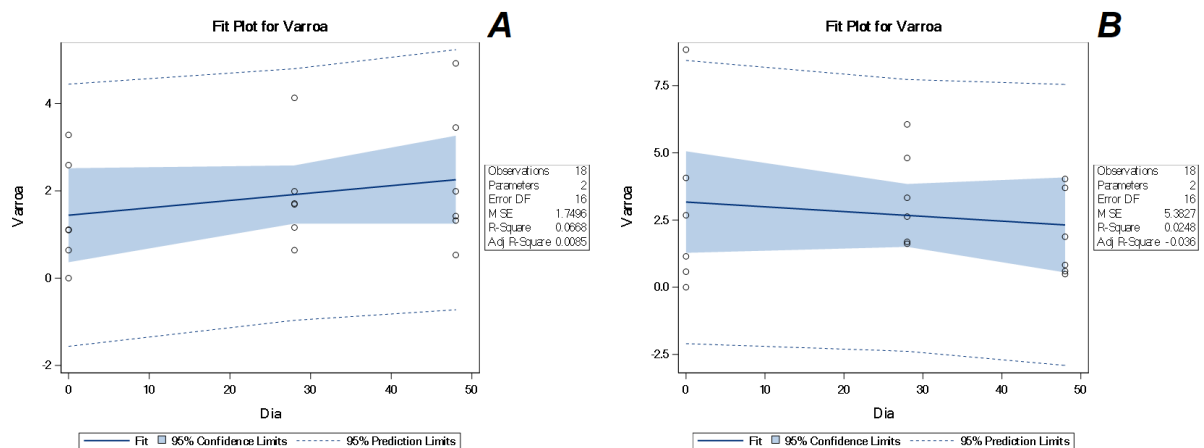
Considerando-se o último mapeamento da etapa inicial, realizado 1 dia antes da introdução das colmeias nas gaiolas de polinização de soja com (F+) ou sem (F-) aplicação de fungicida, e o mapeamento feito após a retirada das colmeias das gaiolas, observa-se que a área ocupada com mel e pólen não foi influenciada pelo manejo nutricional e pelo tratamento das plantas de soja com o fungicida Fox Xpro (Tabela 1). Quanto à área de cria, o grupo das CSA e que foram introduzidas em gaiolas nas quais as plantas não foram tratadas com fungicida não tiveram redução significativa da área ocupada com ovos, larvas e pupas. Para as CSA que foram introduzidas em gaiolas com plantas tratadas com o fungicida Fox Xpro, houve diminuição da área com cria, assim como para o grupo das CRA. Nesse último caso, a diferença foi observada no grupo das CRA instaladas em gaiolas cujas plantas foram tratadas ou não com o fungicida.

**Tabela 1.** Área dos favos (cm<sup>2</sup>) com mel, pólen e cria de colônias que receberam suplementação alimentar (CSA) ou tiveram a alimentação restrita (CRA) antes da introdução em gaiolas de polinização de soja, tratada ou não com o fungicida Fox Xpro, e após a retirada das colônias das gaiolas, num intervalo de 21 dias.

Manejo nutricional	Fungicida na soja	Mel (cm <sup>2</sup> )			Pólen (cm <sup>2</sup> )			Cria (cm <sup>2</sup> )		
		Antes	Depois	P	Antes	Depois	P	Antes	Depois	P
CSA	-	1554,7	1189,3	0,444 <sup>1</sup>	197,3	205,3	0,956	2026,7	913,3	0,116
CSA	+	1674,7	1800,0	0,720	248,0	296,0	0,785	2120,0	1276,0	0,045
CRA	-	352,0	456,0	0,488	226,7	262,7	0,777	1674,7	1178,7	0,045
CRA	+	796,0	814,7	0,934	124,0	137,3	0,641	1525,2	1261,3	0,001

### 2.3.3 Infestação das colônias com o ácaro *Varroa destructor*

Durante o período de manejo nutricional, que se estendeu por 7 semanas, a análise da infestação por *Varroa destructor* não revelou diferenças significativas entre os grupos CSA e CRA. No grupo CSA (Figura 14A), a média de infestação foi de 1,87056 com erro médio quadrático de 1,32273 ( $p > 0,3004$ ), enquanto no grupo CRA (Figura 14B), a média foi de 2,72167 com erro médio quadrático de 2,32007 ( $p > 0,5322$ ). Apesar das condições nutricionais distintas, a infestação por *Varroa destructor* manteve-se estável ao longo do período avaliado, e o modelo de regressão utilizado não conseguiu explicar de forma significativa a variação observada.



**Figura 14.** Efeito do manejo nutricional nos grupos CSA com suplementação alimentar (A) e CRA com restrição alimentar (B) sobre a infestação por *Varroa destructor* ao longo do tempo.

Na comparação dos índices de infestação obtidos ao final do período de manejo alimentar com as análises realizadas após a introdução das colmeias nas gaiolas de polinização de soja tratada ou não com o fungicida Fox XPro, não foram observadas alterações significativas dos índices de infestação entre todos os tratamentos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Índice de infestação (%) com *Varroa destructor* em abelhas melíferas adultas oriundas de colônias que receberam suplementação alimentar (CSA) ou tiveram a alimentação restrita (CRA) antes da introdução em gaiolas de polinização de soja, tratada ou não com o fungicida Fox Xpro, e após a retirada das colônias das gaiolas, num intervalo de 21 dias

Manejo nutricional	Fungicida na soja	Infestação com <i>Varroa destructor</i> (%)		
		Antes	Depois	P
CSA	-	2,3	3,3	0,122
CSA	+	2,3	3,3	0,726
CRA	-	2,0	2,5	0,299
CRA	+	1,8	1,2	0,320

### 2.3.4 Comportamento higiênico das colônias de abelhas melíferas

Durante o manejo alimentar das colônias, a nutrição (N) não afetou significativamente o comportamento higiênico das abelhas, tanto na abertura de células ( $p > 0,914$ ) quanto na remoção de larvas ( $p > 0,152$ ). No entanto, o fator "dia" (D) teve impacto significativo, influenciando a abertura de células ( $p > 0,001$ ) e a remoção de larvas ( $p > 0,045$ ) ao longo das 36 horas de observação. A interação entre nutrição e dia (ND) também foi significativa, afetando ambos os comportamentos (abertura de células:  $P > P > 0,013$ ; remoção de larvas:  $P < 0,001$ ), indicando que o efeito da nutrição

depende do dia. A hora (H) influenciou a retirada dos opérculos ( $P < 0,001$ ) e a remoção de larvas ( $P < 0,001$ ), mas a interação nutrição-horário (NH) não teve efeito significativo. A interação dia-hora (DH) foi significativa, acelerando o comportamento higiênico ao longo do tempo (abertura de células:  $P > P > 0,004$ ; remoção de larvas:  $P > P > 0,005$ ). Por fim, a interação entre nutrição, dia e horário (ND\*H) não influenciou a abertura de células ( $P > 0,900$ ), mas foi significativa para a remoção de larvas ( $p > 0,005$ ) (Tabela 3).

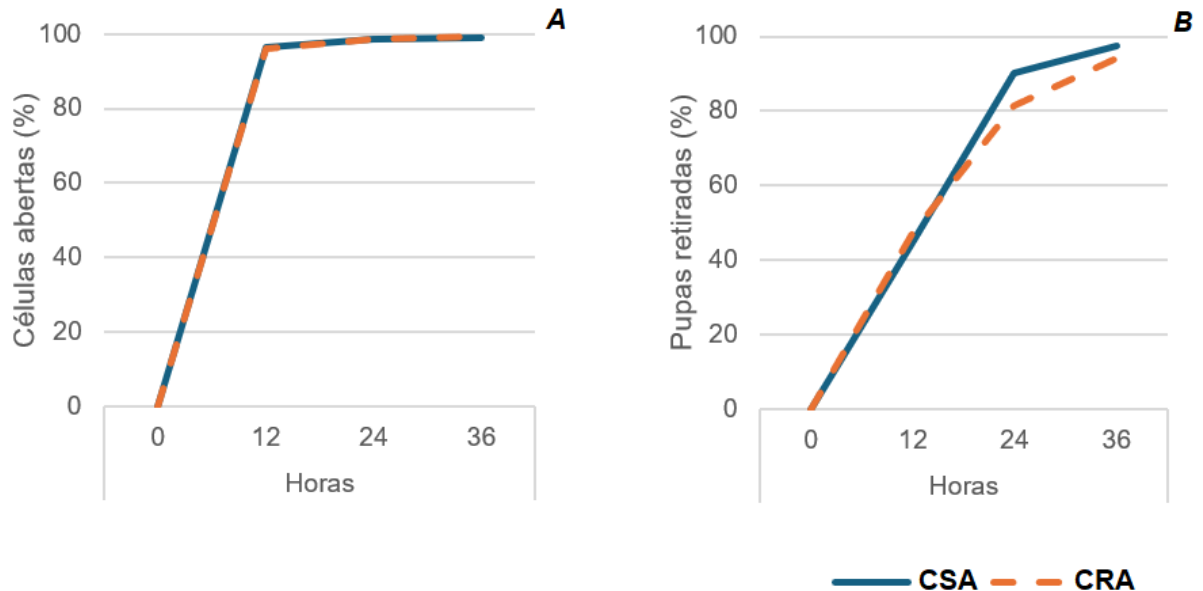
**Tabela 3.** Níveis de significância da análise estatística dos efeitos fixos sobre o comportamento higiênico, em colônias de abelhas melíferas que receberam suplementação alimentar (CSA) ou tiveram a alimentação restrita (CRA).

Efeitos	Células abertas		Pupas retiradas	
	Valor de F	Valor de P	Valor de F	Valor de P
Nutrição das colônias (N)	0,01	0,914	2,10	0,152
Dia (D)	13,50	0,001	3,83	0,045
N*D	4,61	0,013	12,51	<0,001
Hora (H)	17,78	<0,001	190,55	<0,001
N*H	0,34	0,715	2,22	0,116
D*H	4,16	0,004	4,06	0,005
N*D*H	0,27	0,900	4,01	0,005

A análise do comportamento higiênico das colônias de abelhas melíferas, realizada ao longo de 7 semanas, mostrou que o manejo nutricional isolado não teve impacto significativo. No entanto, houve variação significativa ao longo dos dias e horários avaliados (Figura 15). A interação entre nutrição e dia indicou que o efeito da nutrição sobre o comportamento higiênico foi modulado pelo tempo. Em contraste, as interações entre nutrição e horário, bem como entre nutrição, dia e horário, não influenciaram o comportamento. Assim, o comportamento higiênico foi principalmente afetado pelos fatores "dia" e "horário", com destaque para a interação entre nutrição e dia.

Quanto à abertura de células, ambas as colônias, com alimentação suplementada (CSA) e restrita (CRA), atingiram 100% de eficiência de forma consistente, sem diferenças significativas entre os grupos (Figura 15A). Na retirada

de larvas, observou-se uma evolução gradual, com ambos os grupos alcançando valores próximos a 100% nas avaliações de 24 e 36 horas (Figura 15B). As colônias CSA apresentaram desempenho ligeiramente superior nas últimas avaliações, embora ambas mantivessem alta eficiência.



**Figura 15.** Porcentagem de células abertas (A) e porcentagem de pupas retiradas (B) em colônias de abelhas melíferas com suplementação alimentar (CSA) ou colônias com restrição alimentar (CRA). Média de três avaliações realizadas num período de 48 dias.

Na comparação dos dados de comportamento higiênico obtidos na análise anterior à introdução das colmeias nas gaiolas com plantas de soja tratadas ou não com fungicida e a observação feita após a retiradas das colmeias das gaiolas, num intervalo de X dias, constatou-se que os fatores nutrição das colônias (N) e o uso do fungicida (F), avaliados de forma isolada ou em interação, não apresentaram impactos significativos. De forma semelhante, a interação entre nutrição e fungicida (N\*F) também não demonstrou significância em ambos os comportamentos analisados, abertura de células ( $p > 0,491$ ) e remoção de larvas ( $p > 0,128$ ).

O manejo nutricional, assim como a exposição ao fungicida Fox Xpro®, não influenciaram significativamente o comportamento higiênico das colônias. A interação entre nutrição e fungicida também não alterou esse comportamento. No entanto, o

fator horário (H) apresentou significância tanto para a abertura de células quanto para a remoção de larvas, evidenciando uma variação relevante do comportamento ao longo do tempo de trabalho das abelhas nesta atividade (Tabela 4).

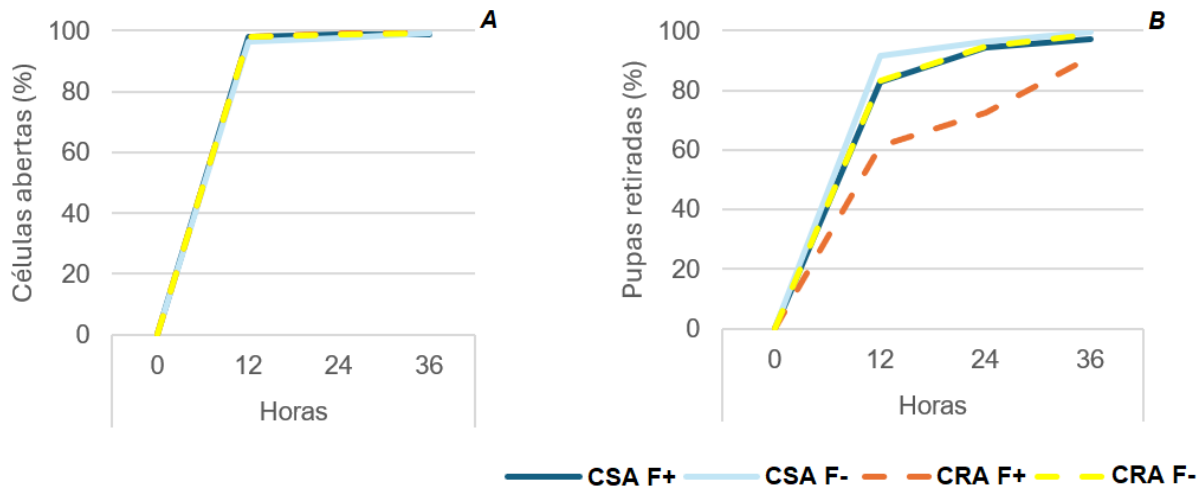
**Tabela 4.** Níveis de significância da análise estatística dos efeitos fixos sobre o comportamento higiênico, em colônias de abelhas melíferas que receberam suplementação alimentar (CSA) ou tiveram a alimentação restrita (CRA) e que foram expostas a fungicida de tripla ação, em gaiola de polinização de plantas de soja.

Efeitos	Células abertas		Larvas retiradas	
	Valor de F	Valor de P	Valor de F	Valor de P
Nutrição das colônias (N)	0,12	0,748	2,04	0,290
Fungicida (F)	1,44	0,357	2,31	0,267
N*F	0,49	0,491	2,54	0,128
Hora (H)	4,51	0,026	6,06	0,010
N*H	0,02	0,979	0,71	0,505
F*H	0,22	0,802	0,61	0,552
N*F*H	0,74	0,492	0,30	0,746

As interações envolvendo horário, nutrição e fungicida (NH, FH e NFH) não apresentaram efeitos significativos em nenhuma das variáveis analisadas. Em síntese, os tratamentos de nutrição e fungicida não influenciaram o comportamento higiênico das colônias de abelhas, mas a variação temporal, representada pelo fator horário, foi um elemento importante a ser considerado.

Todas as colônias, independentemente da nutrição ou da aplicação de fungicida, atingiram 100% na abertura de células já nas primeiras avaliações. Isso demonstra que o comportamento relacionado à abertura de células foi uniforme entre os grupos e não foi afetado pelos tratamentos aplicados (Figura 16A). Já na Figura 16B, que apresenta a porcentagem de larvas retiradas, foram observadas diferenças entre os tratamentos. As colônias com alimentação suplementada, tanto com fungicida (CSA F+) quanto sem fungicida (CSA F-), alcançaram valores próximos a 100% de remoção de larvas nas últimas avaliações, mostrando eficiência consistente ao longo do tempo. Por outro lado, as colônias com restrição alimentar e expostas ao fungicida (CRA F+) apresentaram desempenho inferior no início, mas mostraram uma melhora

gradual, alcançando percentuais elevados nas últimas avaliações. As colônias com restrição alimentar e sem fungicida (CRA F-) tiveram desempenho semelhante ao das colônias suplementadas, também atingindo alta eficiência nas avaliações finais.



**Figura 16.** Porcentagem de células abertas (A) e de pupas retiradas (B) em colônias de abelhas melíferas com alimentação suplementada (S) ou restrita (R), em gaiolas de polinização de soja pulverizada (F+) ou não (F-) com fungicida.

### 2.3.5 Avaliação da produção da soja

Os resultados apresentados mostram que o tipo de polinização teve impacto significativo no peso dos grãos de soja ( $p > 0,009$ ). Quanto ao serviço de polinização realizado pelas abelhas melíferas nas gaiolas, não foram observadas diferenças no peso dos grãos na comparação dos grupos CSA e CRA. As parcelas com o grupo das CSA e do grupo das CRA apresentaram pesos, sem diferenças significativas entre elas (tabela 5). No entanto, essas parcelas tiveram peso superior ao observado nas parcelas sem polinizadores e em áreas abertas com livre polinização, que não diferiram entre si.

O uso do fungicida Fox Xpro® não influenciou significativamente o peso dos grãos ( $p > 0,975$ ), também não foi observada interação significativa entre os fatores polinização e fungicida ( $p < 0,890$ ).

Esses dados indicam que o peso dos grãos foi influenciado pelo tipo de polinização, enquanto a aplicação do fungicida não alterou esse parâmetro.

**Tabela 5.** Peso dos grãos de soja obtidos em parcelas com 8m<sup>2</sup>, em gaiolas contendo colônias de abelhas melíferas suplementadas (CSA), colônias de abelhas melíferas restrição alimentar (CRA), sem polinizadores e em áreas abertas com livre polinização, com ou sem a aplicação do fungicida Fox Xpro®.

Efeitos		Peso (g)
Polinização	CSA	7,75 a*
	CRA	7,70 a
	Sem polinizadores	7,56 b
	Livre polinização	7,57 b
Fungicida	Com	7,65
	Sem	7,64
Erro padrão		0,02
Causas de Variação		Probabilidade
Polinização (a)		0,009
Fungicida (b)		0,975
Interação (a x b)		0,890

\*Letras iguais para o mesmo efeito não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). Dados transformados logaritmicamente.

Os dados apresentados mostram variação no peso médio de 100 grãos de soja entre os tratamentos (tabela 6). As parcelas com o grupo CSA apresentaram o maior peso médio, seguidas pelas parcelas com o grupo CRA.

Da mesma forma, em relação ao uso do fungicida Fox Xpro®, não foi observada diferença significativa entre as parcelas tratadas e as não tratadas ( $p > 0,065$ ). Além disso, a interação entre polinização e aplicação do fungicida também não resultou em diferenças significativas ( $p > 0,221$ ).

Em resumo, o peso médio de 100 grãos de soja não foi significativamente influenciado pelos tratamentos de polinização ou pelo uso do fungicida.

**Tabela 6.** Peso de 100 grãos de soja obtidos em parcelas com 8m<sup>2</sup>, em gaiolas contendo colônias de abelhas melíferas com suplementação (CSA), colônias de abelhas melíferas com restrição (CRA), sem polinizadores e em áreas abertas com livre polinização, com ou sem a aplicação do fungicida Fox Xpro®.

Efeitos		Peso (g)
Polinização	CSA	2,62 a*
	CRA	2,61 a
	Sem polinizadores	2,57 a
	Livre polinização	2,60 a
Fungicida	Com	2,59 a
	Sem	2,61 a
Erro padrão		0,01
Causas de Variação		Probabilidade
Polinização (a)		0,063
Fungicida (b)		0,065
Interação (a x b)		0,221

\*Letras iguais para o mesmo efeito não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). Dados transformados logaritmicamente.

## 2.4 Discussão

### 2.4.1 Peso das colônias: efeito do manejo alimentar e exposição ao fungicida

#### Fox Xpro®

A suplementação alimentar foi eficaz em promover o ganho de peso e o desenvolvimento das colônias. Estudos anteriores corroboram esses achados, indicando que nutrição adequada aumenta a resiliência das colônias frente a estresses ambientais e químicos (Farias et al., 2024; Ferraz, 2024). Por outro lado, a estabilidade observada no grupo com restrição alimentar destaca os desafios enfrentados pelas colônias nesse regime.

A análise do efeito combinado do manejo nutricional e do fungicida Fox Xpro® nas colônias do grupo CSA F+ revelou que a nutrição teve um impacto significativo no peso das colônias, garantindo o desenvolvimento e produtividade mesmo em condições adversas (Nascimento, 2023; Souza et al., 2023). No grupo CSA F-, não houve variações significativas, indicando que a suplementação foi suficiente para manter a estabilidade das colônias. Esses resultados destacam a resistência das colônias suplementadas frente a estresses químicos e ambientais.

Nos grupos CRA F+ e CRA F-, a restrição alimentar teve um impacto negativo mais evidente. O grupo CRA F+ apresentou maior dificuldade em manter o peso e o desenvolvimento das colônias, enquanto o grupo CRA F- teve uma queda mais acentuada. Esses achados reforçam que a falta de nutrição adequada compromete a capacidade das colônias de enfrentar condições adversas (Silva, 2021; França, 2021; Farias et al., 2024).

Em resumo, o manejo nutricional teve um impacto significativo no peso das colônias, especialmente quando combinado com a aplicação do fungicida. A

manutenção das colônias saudáveis, mesmo com o uso de fungicidas, ressalta a importância de práticas de manejo alimentar para a sustentabilidade da apicultura e eficiência na polinização (Ferraz, 2024; Farias et al., 2024; Nascimento, 2023).

Por outro lado, a análise dos quatro grupos experimentais CSA F+ ( $R^2$  0.0709), CSA F- ( $R^2$  0.1490), CRA F+ ( $R^2$  0.0757), CRA F- ( $R^2$  0.1498) indicou que, o manejo nutricional não teve efeito significativo sobre o peso das colônias, sugerindo que outros fatores, além da nutrição e da aplicação do fungicida, podem influenciar o desenvolvimento das colônias.

#### **2.4.2 Efeito do manejo nutricional nas áreas com alimento e cria das colônias de abelhas melíferas dos grupos CSA e CRA**

Os resultados relacionados à variável mel indicaram que a suplementação alimentar teve um impacto significativo, com o grupo das CSA apresentando áreas maiores de mel, especialmente na sétima semana (dia 48), em comparação ao grupo das CRA. Isso está alinhado com estudos que destacam o papel da nutrição suplementar na melhoria da eficiência de forrageamento e no armazenamento de recursos pelas abelhas (Alaux et al., 2010; Brodschneider e Crailsheim, 2010).

Na primeira etapa, relacionada ao manejo nutricional, não houve efeito significativo na produção de cria e pólen, sugerindo que a suplementação atendeu principalmente às demandas energéticas, favorecendo a produção de mel em detrimento de outros processos (Brodschneider e Crailsheim, 2010). Fatores externos, como a disponibilidade de recursos florais e as condições climáticas, também podem ter influenciado esses aspectos (van der Zee et al., 2012), com limitações nutricionais afetando a eficiência das operárias na coleta de pólen (Di Pasquale et al., 2013). Esse cenário indica que fatores ambientais têm maior impacto na coleta de pólen do que o manejo nutricional, corroborando estudos de van der Zee et al. (2012).

É possível que a suplementação nutricional, embora eficaz para a produção de mel, não tenha suprido completamente as necessidades de proteínas e outros nutrientes essenciais para a produção de cria e manutenção dos estoques de pólen. Estudos como os de Di Pasquale et al. (2013) indicam que uma composição nutricional balanceada é crucial para atender às múltiplas demandas das colônias. Além disso, as colônias ajustam suas atividades conforme as necessidades internas, o que pode

explicar a ausência de impacto significativo na produção de cria e pólen (Fewell e Winston, 1992).

A segunda etapa, que avaliou a situação antes e após a introdução das abelhas nas gaiolas, revelou que, embora a suplementação nutricional tenha mostrado potencial, há espaço para aprimorar as estratégias aplicadas. Suplementos mais equilibrados, aliados a uma compreensão das interações entre ambiente, sazonalidade e nutrição, são essenciais para promover o desenvolvimento e sustentabilidade das colônias (Vaudo et al., 2016). Isso implica que, embora o manejo nutricional seja valioso para a produtividade das colônias, sua eficácia na produção de cria e pólen depende de ajustes mais específicos e adaptados às necessidades das abelhas.

Em relação ao fungicida, não houve significância estatística, indicando que seu impacto na produção de mel é limitado, como observado por Schmechl et al. (2014), que destacaram efeitos subletais sem impacto direto na produção. Além disso, a produção de mel não foi influenciada significativamente pelo tempo, sugerindo que a suplementação pode superar limitações temporais, como sazonalidade ou variações climáticas.

Quanto à área de pólen, os resultados não demonstraram significância estatística. Embora o grupo das CSA tenha apresentado um aumento no dia 28, o grupo das CRA apresentou tendência de redução. Isso sugere que a duração do experimento ou o estágio de desenvolvimento das colônias pode ter influenciado a quantidade de cria (Fewell e Winston, 1992), e que a produção de cria é mais afetada por fatores internos à colônia, como autorregulação, do que por intervenções externas.

No grupo das CRA, a restrição nutricional não provocou mudanças significativas na produção de mel ou cria, mantendo as colônias em um estado estável. Isso pode ser atribuído à autorregulação das abelhas, que priorizam a manutenção da colônia em vez do crescimento ou da produção, especialmente em condições de restrição nutricional (Fewell e Winston, 1992; Seeley, 1995). A produção de pólen nas CRA apresentou variações modestas, refletindo a menor disponibilidade de nutrientes essenciais, o que impactou a eficiência das operárias na coleta (Di Pasquale et al., 2013).

Esses resultados ressaltam a importância de práticas de manejo nutricional adequadas para otimizar a produção de mel, mas indicam que a produção de pólen e cria é menos sensível a esses tratamentos, sendo mais influenciada por fatores externos ou internos ainda não totalmente compreendidos. Estudos futuros devem explorar combinações de manejo nutricional com ajustes no ambiente e na duração dos experimentos para entender melhor as interações entre esses fatores e as demandas das colônias (Vaudo et al., 2016; Alaux et al., 2010).

Por fim, os resultados sublinham a necessidade de ajustes no manejo nutricional em condições de restrição. A estabilidade observada sugere que as colônias possuem resiliência a níveis limitados de nutrição, mas suplementações mais equilibradas, ricas em proteínas e aminoácidos essenciais, poderiam otimizar a produção de pólen, mel e cria. Estudos como os de Alaux et al. (2010) e Vaudo et al. (2016) indicam que dietas enriquecidas podem melhorar a saúde e o desempenho das colônias, especialmente em períodos de escassez de recursos naturais. Fatores externos, como a disponibilidade de recursos florais, sazonalidade e condições climáticas, também podem ter influenciado os resultados.

#### **2.4.3 Influência dos manejos e aplicação do fungicida Fox Xpro® na taxa de infestação de *Varroa destructor***

A análise das taxas de infestação por *Varroa destructor* nos grupos CSA e CRA indicou que o manejo nutricional aplicado não apresentou impacto significativo sobre a presença do ácaro. Essa ausência de efeito direto sugere que, embora a suplementação alimentar seja benéfica para outros aspectos do desempenho das colônias, ela não é suficiente para influenciar diretamente a infestação por *Varroa destructor*. Estudos anteriores corroboram essa observação, associando a infestação por *Varroa* a fatores como densidade populacional, sazonalidade e dinâmica da colônia, em vez de à nutrição isoladamente (Rosenkranz et al., 2010).

A alta variabilidade observada nas taxas de infestação entre as colônias sugere que fatores ambientais e genéticos desempenham papéis importantes. Características genéticas, como o comportamento higiênico relacionado à remoção de ácaros pelas operárias, são fatores determinantes para as taxas de infestação e podem variar significativamente entre colônias (Mondet et al., 2015). Além disso,

condições ambientais como temperatura, umidade e proximidade de colônias infestadas foram identificadas como fatores relevantes que influenciam os níveis de infestação (Ramsey et al., 2019).

Embora o manejo nutricional não tenha mostrado impacto direto nas taxas de infestação, ele pode influenciar indiretamente a resiliência das abelhas aos efeitos negativos do ácaro. A suplementação alimentar tem o potencial de melhorar a saúde geral da colônia, aumentando sua capacidade de enfrentar estressores externos, como *Varroa destructor* e doenças associadas, incluindo o vírus da asa deformada (Deformed Wing Virus, DWV) (DeGrandi-Hoffman et al., 2015). Em contraste, colônias sob restrição nutricional podem estar mais vulneráveis a esses fatores devido à redução na capacidade imunológica das abelhas (Alaux et al., 2010).

A análise estatística das taxas de infestação, considerando efeitos fixos e aleatórios, não identificou significância estatística nos efeitos fixos avaliados, como nutrição, fungicida e suas interações. Esses resultados sugerem que as diferenças observadas são atribuíveis a variações aleatórias entre colônias, em vez de serem diretamente relacionadas aos tratamentos aplicados. Tais achados reforçam estudos anteriores que apontam a variabilidade das taxas de infestação por *Varroa* como consequência de fatores externos e genéticos (Rosenkranz et al., 2010; Ramsey et al., 2019).

A ausência de significância nos efeitos fixos reflete a complexidade da interação entre *Varroa destructor* e o ambiente das colônias. Aspectos como diferenças no comportamento higiênico das abelhas (Mondet et al., 2015), proximidade de colônias infestadas e condições ambientais específicas provavelmente influenciam os níveis de infestação. Além disso, a interação entre nutrição e resistência a *Varroa* pode depender de mediadores adicionais, como saúde imunológica das abelhas e presença de patógenos associados (DeGrandi-Hoffman et al., 2015).

Embora os efeitos do fungicida Fox Xpro® não tenham sido significativos em relação às taxas de infestação, o uso de fungicidas tem sido relacionado a efeitos subletais nas abelhas, como estresse oxidativo e alterações comportamentais (Schmechl et al., 2014). A falta de impacto direto do fungicida na infestação por *Varroa*

pode refletir a interação complexa entre fatores químicos e ambientais que influenciam indiretamente a saúde das colônias (Bernauer et al., 2015).

A variabilidade observada na taxa de infestação ressalta a importância de fatores ambientais. Esses fatores podem exercer maior influência sobre os níveis de infestação do que os tratamentos aplicados, destacando a necessidade de estratégias específicas para cada contexto (Rosenkranz et al., 2010). Assim, abordagens multifatoriais que integrem manejo nutricional, controle químico e práticas genéticas devem ser priorizadas para mitigar os impactos de *Varroa destructor* (Calderone, 2012; Dainese et al., 2019).

Esses achados sugerem que o manejo nutricional isolado não é suficiente para reduzir as taxas de infestação por *Varroa*, mas contribui para o desenvolvimento geral das colônias, fortalecendo sua resiliência a estressores ambientais e parasitários. Estratégias integradas que combinem suplementação nutricional com intervenções específicas de controle continuam sendo uma abordagem promissora para o manejo sustentável das colônias de abelhas.

#### **2.4.4 Avaliação do comportamento higiênico**

Os resultados deste estudo evidenciam que o comportamento higiênico em colônias de abelhas melíferas é fortemente influenciado por fatores temporais, como o dia e o horário das avaliações, enquanto a nutrição e a aplicação de fungicidas não apresentaram impactos diretos significativos. A ausência de efeito da nutrição sobre a abertura de células e a remoção de larvas está alinhada com estudos anteriores que sugerem que o comportamento higiênico é mais determinado por fatores genéticos e ambientais do que pelo manejo nutricional (Mondet et al., 2015; Ramsey et al., 2019). Esses comportamentos estão diretamente relacionados à capacidade das abelhas de detectar e remover células comprometidas, uma característica fundamental para a saúde da colônia (Spivak e Reuter, 2001).

Apesar disso, a interação entre nutrição e dia apresentou significância, sugerindo que o efeito da nutrição sobre o comportamento higiênico pode ser modulado ao longo do tempo. Isso pode refletir mudanças na dinâmica interna das colônias, como o aumento das necessidades de manutenção das crias ou alterações na atividade das operárias em resposta a estímulos externos (Fewell e Winston,

1992). Adicionalmente, a significativa influência do horário reforça que os padrões diurnos das abelhas, como os ciclos de forrageamento e atividade interna, podem desempenhar um papel importante na expressão do comportamento higiênico (Giray et al., 2000).

Por outro lado, a aplicação de fungicidas, isoladamente ou em interação com a nutrição, não demonstrou impacto significativo sobre o comportamento higiênico das colônias. Esse achado está em consonância com estudos que indicam que muitos fungicidas possuem baixa toxicidade direta para as abelhas, embora possam causar efeitos subletais ou alterações no ambiente da colônia, como mudanças na qualidade do pólen ou do néctar (Bernauer et al., 2015; Simon-Delso et al., 2018). Contudo, é importante considerar que o impacto de fungicidas pode ser mais evidente em condições de maior estresse, como alta infestação por patógenos ou disponibilidade limitada de recursos florais (Alaux et al., 2010).

A eficiência consistente das colônias na abertura de células, independentemente dos tratamentos, demonstra a robustez desse aspecto do comportamento higiênico. Já a evolução gradual na remoção de larvas ao longo do tempo, particularmente nas colônias com restrição alimentar e exposição ao fungicida, sugere que fatores como estresse nutricional e pressão externa podem influenciar a eficiência desse comportamento. Estudos apontam que colônias submetidas a estresses múltiplos tendem a priorizar a alocação de recursos para a sobrevivência, o que pode impactar temporariamente aspectos do comportamento higiênico (DeGrandi-Hoffman et al., 2015; Brodschneider e Crailsheim, 2010).

A interação entre nutrição, fungicida e horário não demonstrou diferença estatística no comportamento higiênico, pelo menos nas condições avaliadas. No entanto, a relevância do fator horário indica que as avaliações devem considerar o momento do dia em que os dados são coletados, pois variações comportamentais podem ocorrer de forma cíclica (Giray et al., 2000).

#### **2.4.5 Produção de grãos de soja**

A análise da colheita de soja demonstrou que a polinização desempenha um papel crucial na produção de grãos, enquanto a aplicação de fungicidas, isoladamente ou em interação com os tipos de polinização, não apresentou impacto relevante.

Esses resultados reforçam a importância da polinização como um fator essencial para maximizar a produtividade da soja, em consonância com estudos que destacam os benefícios ecológicos e econômicos proporcionados por polinizadores em culturas agrícolas (Blaauw e Isaacs, 2014; Aizen et al., 2019).

Apesar das variações nas médias ajustadas entre 7,54 e 7,76 para as combinações de Polinização e Fungicida, os intervalos de confiança foram semelhantes, indicando a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Esses achados sugerem que a aplicação de fungicidas, nas condições testadas, não interfere nos benefícios da polinização para a produtividade da soja. Dainese et al. (2019) observaram resultados similares, evidenciando que a presença de polinizadores impacta diretamente o rendimento das culturas, independentemente de práticas adicionais, como o uso de agroquímicos.

A ausência de impacto dos fungicidas na interação com a polinização pode estar associada à baixa toxicidade direta dos produtos para os polinizadores ou à sua rápida degradação no ambiente, reduzindo potenciais efeitos colaterais sobre os serviços ecossistêmicos (Simon-Delso et al., 2018). No entanto, é necessário considerar que fungicidas podem provocar impactos subletais ou efeitos indiretos não detectados neste estudo, como alterações na saúde das abelhas ou na qualidade do pólen e do néctar (Bernauer et al., 2015).

Os resultados destacam a necessidade de aprofundar as investigações sobre as diferenças entre os tipos de polinização. Futuras pesquisas podem explorar como práticas de manejo, como a integração de áreas de refúgio floral ou o uso de suplementos nutricionais para abelhas, podem potencializar os efeitos da polinização em culturas agrícolas (Garibaldi et al., 2013; Dainese et al., 2019). Além disso, avaliar os impactos de longo prazo do uso contínuo de fungicidas em diferentes contextos ambientais pode oferecer insights valiosos para a sustentabilidade das práticas agrícolas.

Esses achados ressaltam a relevância de práticas agrícolas que promovam a presença e o desempenho dos polinizadores como uma estratégia para aumentar a produtividade da soja. A redução da dependência de insumos químicos, aliada à valorização dos serviços ecossistêmicos prestados pelos polinizadores, pode contribuir para sistemas agrícolas mais resistentes, sustentáveis e produtivos.

## 2.5 Conclusão

A suplementação alimentar das colônias de abelhas foi positiva para a estoque de mel, enquanto fungicidas e tempo de exposição não tiveram impacto significativo. O comportamento higiênico foi influenciado pelo tempo e horário das avaliações, sem efeitos diretos da nutrição. Os manejos nutricionais para *Varroa destructor* não alteraram as taxas de infestação, sugerindo a influência de outros fatores. A polinização das abelhas foi determinante para a produtividade de soja, mas fungicidas não afetaram a cultura.

A suplementação nutricional teve benefícios para as colônias de abelhas e a produtividade de soja, enquanto fungicidas e *Varroa destructor* não apresentaram efeitos significativos

## Referências

Aizen MA, Aguiar S, Biesmeijer JC, Garibaldi LA, Inouye DW, Jung C, Martins DJ, Medel R, Morales CL, Ngo H, Pauw A, Paxton RJ, Sáez ZA, Seymour CL (2019) Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. **Global Change Biology** 25(10):3516-3527.

Alaux C, Ducloz F, Crauser D, Le Conte Y (2010) Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters** 6(4):562-565.

Al-Tikrity WS, Hillmann RC, Benton AW, Clarke-Jr WW (1971) A new instrument for brood measurement in a honeybee colony. **American Bee Journal** 111:20-21,26.

Alves TRR, Trivellato MF, Freitas TAL, Kato AY, Gomes CRA, Ferraz YMM, Serafim JÁ, Jong D, Prado EP, Vicente EF, Orsi RO, Pereira GT, Miranda CA, Mingatto FE, Nicodemo D (2024) Pollen contaminated with a triple-action fungicide induced oxidative stress and reduced longevity though with less impact on lifespan in honey bees from well-fed colonies. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 112:104587.

Bayer (2019) **Fox Xpro Fungicide**. Bayer Crop Science. Disponível em: <https://www.bayercropscience.com>

Bernauer OM, Gaines-Day HR, Steffan SA (2015) Colonies of Bumble Bees (*Bombus impatiens*) produce fewer workers, less bee biomass, and have smaller mother queens following fungicide exposure. **Insects** 6(2):478-488.

Blaauw BR, Isaacs R (2014) Flower plantings increase wild bee abundance and the pollination services provided to a pollinator-dependent crop. **Journal of Applied Ecology** 51(4):890–898.

Brodschneider R, Crailsheim K (2010) Nutrition and health in honey bees. **Apidologie** 41:278-294.

Calderone NW (2012) Insect-pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: Trend analysis of aggregate data for the period 1992–2009. **PLoS One** 7(5):e37235.

Degrandi-Hoffman G, Chen Y, Watkins Dejong E, Chambers ML, Hidalgo G (2015) Effects of oral exposure to fungicides on honey bee nutrition and virus levels. **Journal of Economic Entomology** 108(6):2518-2528.

Dainese M, Martin EA, Aizen MA, Albrecht M, Bartomeus I, Bommarco R, Carvalheiro LG, Chaplin-Kramer R, Gagic V, Garibaldi LA, et al. (2019) A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. **Science Advances** 5:(10): eaax0121.

Di Pasquale G, Salignon M, Conte YL, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet JL, Alaux C (2013) Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? **PLoS One** 8(8): e72016.

Farias LS, de Jesus MC, Modesto VC, da Costa MM, Brito ER, Pinheiro EEG, de Carvalho CAL (2024) Seleção de colônias de *Apis mellifera* por meio da avaliação do comportamento higiênico. **Diversitas Journal** 9(1):71-80.

Ferraz YMM (2024) **Efeito da nutrição e da própolis verde sobre aspectos biológicos em abelhas melíferas expostas ao fungicida Fox Xpro®**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista (Unesp – Jaboticabal). Disponível em: <https://hdl.handle.net/11449/256929>

Fewell JH, Winston ML (1992) Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 30:387–393.

Fidelis JPS, Miranda CA, Nicodemo D, Mingatto FE (2024) Clomazone herbicide impairs bioenergetics in mitochondria isolated from the thorax of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research** 7(2):e70709.

França SO (2021) **Parasitos e patógenos de *Apis mellifera* (Apini) em Meliponini**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. 70 f. Disponível em: [https://www2.ufrb.edu.br/ppiz/images/Disserta%C3%A7%C3%B5es/Dissert\\_Suelen\\_Oliveira\\_Franc%CC%A7a.pdf](https://www2.ufrb.edu.br/ppiz/images/Disserta%C3%A7%C3%B5es/Dissert_Suelen_Oliveira_Franc%CC%A7a.pdf)

Freitas TAL, Kato AY, Gomes CRA, Alves TRR, Ferraz YMM, Serafim JÁ, Silva MAG, De Jong D, Prado EP, Vicente EF, Nicodemo D (2024) Contact exposure of honey bees and social stingless bees to fungicide sprayed on cotton and soybean in a controlled field simulation system. **Journal of Applied Entomology** 148(8):861–869.

Garibaldi LA, et al. (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. **Science** 339(6127):1608-1611.

Giray T, Guzman-Novoa E, Aron CW, Zelinsky B, Fahrbach SE, Robinson GE (2000) Genetic variation in worker temporal polyethism and colony defensiveness in the honey bee, *Apis mellifera*. **Behavioral Ecology** 11(1):44-55.

Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray EL (2015) Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science** 347(6229):1255-957.

Kato AY, Freitas TAL, Gomes CRA, Alves TRR, Ferraz YMM, Trivellato MF, de Jong D, Biller JD, Nicodemo D (2024) Bixafen, prothioconazole, and trifloxystrobin alone or in combination have a greater effect on health-related gene expression in honey bees from nutritionally deprived than from protein-supplemented colonies. **Insects** 15(7):523.

Mondet F, de Miranda JR, Kretzschmar A, Conte YL, Mercer AR (2014) On the front line: Quantitative virus dynamics in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies along a new expansion front of the parasite *Varroa destructor*. **PLoS Pathogens** 10(8):e1004323.

Nascimento RL (2023) **Comportamento higiênico e índice de infestação do *Varroa destructor* nas abelhas africanizadas no município de Santa Teresinha-Ba.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB). Disponível em: <http://ri.ufrb.edu.br/jspui/handle/123456789/3386>

Naug D, Gibbs A (2009) Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with *Nosema ceranae*. **Apidologie** 40:595-599.

Nicodemo D, De Jong D, Couto RHN, Malheiros EB (2013) Honey bee lines selected for high propolis production also have superior hygienic behavior and increased honey and pollen stores. **Genetics and Molecular Research** 12(4):6931-6938.

Raij BV, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC (1997) Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: **Instituto Agrônomo** 2:285.

Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery JD, Cohen A, Lim D, Joklik J, Cicero JM, Ellis JD, Hawthorne D, Vanengelsdorp D (2019) *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. **Biological Sciences** 116(5):1792-1801.

Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. **Journal of Invertebrate Pathology** 103:S96-119.

Scepankova H, Majtan J, Estevinho LM, Saraiva JA (2024) The high-pressure preservation of honey: A comparative study on quality changes during storage. **Foods** 13(7):989.

Schmehl DR, Teal PE, Frazier JL, Grozinger CM (2014) Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (*Apis mellifera*). **Journal of Insect Physiology** 71:177-190.

Schulz DJ, Huang ZY, Robinson GE (1998) Effect of colony food shortage on the behavioral development of the honey bee, *Apis mellifera*. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 42:295–303.

Seeley TD (1995) **The Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honeybee Colonies**. Harvard University Press.

Silva LA (2021) **Comportamento higiênico como resposta ao ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) no semiárido brasileiro**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/items/6f7a7b60-18fb-4caa-892f-a15178cc0f91>

Simon-Delso N, Martin GS, Bruneau E, Hautier L, Maus C (2018) Time-to-death approach to reveal chronic and cumulative toxicity of a fungicide for honeybees not revealed with the standard ten-day test. **Scientific Reports** 8:7241.

Souza ACP, da Silva RA, de Medeiros AC, de Oliveira Neto JN, de Almeida FFF, Gurjao TA, et al. Maracaja PB (2023) O *Varroa destructor* e suas implicações nas abelhas *Apis mellifera*. **Revista COOPEX**, UNIFIP 14(1):163-191. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1152793/1/O-Varroa-destructor-e-suas-implicacoes.pdf>

Spivak M, Reuter GS (2001) Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. **Apidologie** 32(6):555-565.

Van der Zee R, Pisa LW, et al. (2012) Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008–9 and 2009–10. **Journal of Apicultural Research** 51(1):100-114.

Vaudo AD, Tooker JF, Grozinger CM, Patch HM (2021) Bee nutrition and floral resource restoration. **Current Opinion in Insect Science** 10:133-141.

Winston ML (1987) **The Biology of the Honey Bee**. Harvard University Press.