

## O herbicida glifosato pode interferir nas interações sociais de abelhas *Apis mellifera* operárias?

Can the glyphosate herbicide cause behavioral changes in worker bees?

¿Puede el herbicida glifosato interferir con las interacciones sociales de las abejas obreras *Apis mellifera*?

Recebido: 22/06/2023 | Revisado: 29/06/2023 | Aceitado: 30/06/2023 | Publicado: 04/07/2023

### **Bianca Caroline Antunes**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-7827-6836>  
Universidade Federal de São Carlos, Brasil  
E-mail: [biantunes1@gmail.com](mailto:biantunes1@gmail.com)

### **Letícia Gonçalves Ribeiro**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-1163-949X>  
Universidade Federal de São Carlos, Brasil  
E-mail: [leticiagoncalves.bio@gmail.com](mailto:leticiagoncalves.bio@gmail.com)

### **Amanda Maria Roque**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5810-6098>  
Universidade Federal de São Carlos, Brasil  
E-mail: [amandamaria.amr14@gmail.com](mailto:amandamaria.amr14@gmail.com)

### **Kátia Maria Ferreira**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2145-7550>  
Universidade Federal de São Carlos, Brasil  
E-mail: [katilaferreira98@gmail.com](mailto:katilaferreira98@gmail.com)

### **Elissandra Ulbricht Winkaler**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3297-4283>  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Brasil  
E-mail: [elis@ufpb.edu.br](mailto:elis@ufpb.edu.br)

### **Marcos Gonçalves Lhano**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2760-5718>  
Universidade Federal de São Carlos, Brasil  
E-mail: [marcosgl@ufscar.br](mailto:marcosgl@ufscar.br)

### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi observar possíveis alterações comportamentais de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758), após exposição ao herbicida glifosato. Para isso, foram utilizados dois métodos de exposição (ingestão e pulverização) e as concentrações de 0 (Grupo Controle), 0,01 e 1 mL.L<sup>-1</sup>, durante 24 horas de exposição. No método de ingestão, as abelhas foram alimentadas com mel acrescido das soluções, enquanto no teste de contato, as abelhas foram pulverizadas com as concentrações do herbicida. Analisou-se as interações de contato (antenação e trofalaxia), mobilidade (capacidade de alçar voo) e letargia (dificuldade de alçar voo e voo deficiente), além da mortalidade dos indivíduos. De forma geral, nos dois tipos de exposição (ingestão e pulverização) com a menor concentração testada (0,01 mL.L<sup>-1</sup>) foram observadas maior frequência de contato e menor mobilidade das abelhas. Enquanto que, as abelhas expostas a 1 mL.L<sup>-1</sup> de glifosato apresentaram menor contato e maior mobilidade e letargia, além de maior taxa de mortalidade das abelhas. Confirmou-se que maiores concentrações do herbicida podem afetar as interações sociais das abelhas; contudo, o método de pulverização foi o que acarretou maior mortalidade. Assim, concluímos que a exposição ao glifosato ocasiona efeitos nas interações sociais em indivíduos de *A. mellifera*.

**Palavras-chave:** Agrotóxico; Comportamento; *Apis*.

### **Abstract**

The objective of this study was to observe possible behavioral alterations of Africanized bees (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) after exposure to glyphosate herbicide. For this, two exposure methods were used (ingestion and spraying) and concentrations of 0 (Control Group), 0.01 and 1 mL.L<sup>-1</sup> during 24 hours of exposure. In the ingestion method, the bees were fed with honey added to the solutions, while in the contact test, the bees were sprayed with the herbicide concentrations. Contact interactions (antennation and trophallaxis), mobility (ability to take off) and lethargy (difficulty taking off and poor flight) were analyzed, in addition to individual mortality. In general, in both types of exposure (ingestion and spraying), at the lowest concentration tested (0.01 mL.L<sup>-1</sup>) higher frequency of contact and lower mobility of bees were observed. While bees exposed to 1 mL.L<sup>-1</sup> of glyphosate showed less contact and greater

mobility and lethargy, in addition to a higher bee mortality rate. It was confirmed that higher concentrations of the herbicide can affect the social interactions of bees; however, the spraying method was the one that led to the highest mortality. Thus, we conclude that exposure to glyphosate causes effects on social interactions in individuals of *A. mellifera*.

**Keywords:** Pesticides; Behavior; *Apis*.

### Resumen

El objetivo de este estudio fue observar posibles alteraciones del comportamiento de abejas africanizadas (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) luego de la exposición al herbicida glifosato. Para ello se utilizaron dos métodos de exposición (ingestión y aspersión) y concentraciones de 0 (Grupo Control), 0.01 y 1 mL.L<sup>-1</sup>, durante 24 horas de exposición. En el método de ingestión, las abejas fueron alimentadas con miel añadida a las soluciones, mientras que en la prueba de contacto, las abejas fueron rociadas con las concentraciones de herbicida. Se analizaron interacciones de contacto (antenación y trofalaxis), movilidad (capacidad de despegue) y letargo (dificultad de despegue y vuelo deficiente), además de la mortalidad individual. En general, en los dos tipos de exposición (ingestión y aspersión) de menor concentración ensayada (0.01 mL.L<sup>-1</sup>) se observó mayor frecuencia de contacto y menor movilidad de las abejas. Mientras que las abejas expuestas a 1 mL.L<sup>-1</sup> de glifosato mostraron menor contacto y mayor movilidad y letargo, además de una mayor tasa de mortalidad de abejas. Se confirmó que concentraciones más altas del herbicida pueden afectar las interacciones sociales de las abejas; sin embargo, el método de aspersión fue el que provocó mayor mortalidad. Por lo tanto, concluimos que la exposición al glifosato causa efectos en las interacciones sociales en individuos de *A. mellifera*.

**Palabras clave:** Plaguicidas; Comportamiento; *Apis*.

## 1. Introdução

Dentre os compostos mais comercializados na agricultura brasileira, encontra-se o composto glifosato [N-(fosfometil)glicina], que é um herbicida de uso e aplicação simples, considerado eficiente eliminador de espécies vegetais invasoras (Amarante Junior *et al.*, 2002; Galli & Montezuma, 2005). As formulações de herbicidas com glifosato como ingrediente ativo estão entre os pesticidas mais utilizados no mundo (Bacon *et al.*, 2023), sendo estes, os mais utilizados no Brasil (Singh *et al.*, 2020).

Utilizado no combate a ervas daninhas, seu uso aumentou com a liberação de lavouras transgênicas, como a soja, que foi modificada para ser mais resistentes a esse herbicida. No Brasil, segundo dados do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) existem mais de 100 produtos comerciais à base de glifosato registrados para uso (AGROFIT, 2020).

O glifosato pode afetar organismos não-alvo, como os insetos polinizadores, e encontra-se na literatura científica estudos que demonstram a existência de resíduos de glifosato em produtos de abelhas comerciais e não comerciais, como mel, pólen e cera (Kasiotis *et al.*, 2014; Rubio *et al.*, 2014; Thompson *et al.*, 2014; Berg *et al.*, 2018). As abelhas são contaminadas com pesticidas ao entrar em contato durante a pulverização, consumindo gotículas de pesticidas no ambiente ou coletando e ingerindo água, néctar e pólen contaminados (Jay, 1986). Nas abelhas, o glifosato também exerce efeitos adversos sobre o comportamento e o estado fisiológico de abelhas adultas, afetando a memória, aprendizado, a capacidade de navegação das abelhas (Herbert *et al.*, 2014; Balbuena *et al.*, 2015) e funções motoras (Jacob *et al.*, 2019).

*Apis mellifera scutellata* Lepelletier, 1836 é uma subespécie africana de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera), polinizadora e produtora de mel que foi introduzida no Brasil em 1956 (Oliveira e Cunha, 2005) e detém algumas particularidades, como a alta eficiência em enxamear e obter sucesso em áreas consideradas inóspitas, com aumentos populacionais extremamente rápidos (De Jong, 1996). Após aproximadamente um ano da sua introdução, enxames escaparam e ocorreu o cruzamento com outras subespécies de abelhas melíferas européias já introduzidas no Brasil anteriormente, originando populações políbridas denominadas “africanizadas” devido a predominância das características de *A. m. scutellata* nestas. As abelhas africanizadas *A. mellifera* estão distribuídas desde a Argentina até os Estados Unidos (Oliveira & Cunha, 2005).

A presença desses polinizadores é crucial para o sucesso reprodutivo de espécies vegetais existentes em áreas de

produção agrícola (Imperatriz-Fonseca e Joly, 2017). Contudo, o uso intensivo de agrotóxicos em lavouras tem ameaçado esses insetos, acarretando a diminuição de suas populações (Sousa *et al.*, 2013).

Algumas disfunções morfológicas e/ou fisiológicas no organismo de abelhas em contato com agrotóxicos são encontradas na literatura (Faita *et al.*, 2018; Helmer *et al.*, 2014), bem como ecológicas e comportamentais (Balbuena *et al.*, 2015; Farina *et al.*, 2019; Herbert *et al.*, 2014).

Frente à problemática de que o uso utilização indiscriminada de agrotóxico no meio ambiente pode acarretar danos aos polinizadores, especialmente em abelhas, o objetivo do presente estudo foi observar possíveis alterações comportamentais de *Apis mellifera* após exposição ao glifosato, um dos herbicidas mais comumente utilizados na agricultura. Assim, a hipótese levantada foi a de que a ingestão ou contato de glifosato em indivíduos de *A. mellifera* afeta diretamente na fisiologia desses organismos, acarretando mudanças comportamentais, onde as maiores concentrações do herbicida ocasionam um maior grau dessas alterações.

## 2. Metodologia

### Coleta das abelhas

Os experimentos de exposição ao glifosato (ingestão e contato) foram realizados durante os meses de julho a outubro de 2019, na Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, em Buri, São Paulo (23°35'45" Sul; 48°31'53" Oeste).

As abelhas (*Apis mellifera*) utilizadas como bioindicadoras foram capturados de três colmeias próximas umas às outras e semelhantes quanto ao número de quadros de crias, localizadas no campus, em área da Fazenda Escola Lagoa do Sino (FELS), local livre da aplicação de agrotóxicos. Para a captura dos indivíduos utilizou-se coletor manufaturado de garrafas do tipo PET (Polietileno Tereftalato), sendo coletadas apenas abelhas operárias.

Para a realização de testes para verificação das interações sociais, as abelhas coletadas foram acondicionadas em recipiente de plástico e levadas ao refrigerador a 2 °C para a criostesia (de 3 a 4 minutos). Os animais imóveis foram dispostos em gaiolas de madeira de tamanho padrão (30 x 30 x 58 cm) envolvidos com tela mosquiteira branca de nylon, para a posterior realização dos testes de exposição, utilizando um delineamento inteiramente casualizado.

### Testes de exposição ao glifosato

Para a avaliação dos efeitos da exposição do glifosato nas interações sociais das abelhas foram realizados dois testes de exposição: ingestão e contato (pulverização). Em ambas as vias de exposição, foram testadas três concentrações da formulação de um produto comercial contendo 792,5 g.kg<sup>-1</sup> de sal de amônio de glifosato: 0,0 (Grupo Controle), 0,01 mL.L<sup>-1</sup> (concentração subletal) e 1 mL.L<sup>-1</sup> do produto diluído em água destilada. Essas concentrações foram escolhidas com base em trabalhos na literatura (Costa, 2020; Silva *et al.*, 2023) e seguindo a recomendação do fabricante, para controle de pragas nos cultivos de milho, soja e trigo (bula do fabricante, Roundup WG®, Monsanto).

Para cada teste, em ambas as vias de exposição, foram realizadas 10 repetições, sendo 10 animais em cada repetição, totalizando assim 100 abelhas para cada concentração testada.

Os testes de ingestão foram realizados de acordo com a metodologia de Miranda *et al.* (2003), com adaptações. Para tanto, um alimentador contendo 4 mL de mel foi fixado com cola no interior de cada uma das caixas contendo as abelhas. Nos tratamentos com o herbicida, foram adicionados ao mel, as concentrações de 0,01 e 1 mL da solução de glifosato, enquanto as abelhas do Grupo Controle foram alimentadas apenas com mel acrescido de 1 mL de água destilada.

As caixas foram mantidas no laboratório do apiário do FELS com luminosidade e temperatura natural, para que os experimentos pudessem ser realizados simulando as condições climáticas mais próximas das encontradas em campo. Os

animais foram avaliados após 24 horas de alimentação, sendo registradas a frequências das interações sociais e a mortalidade das abelhas expostas as diferentes concentrações do glifosato, durante 30 minutos.

As interações registradas foram: Contato (incluindo a antenação, quando duas abelhas estão frente a frente com suas antenas se tocando e trofalaxia, quando duas abelhas estão frente a frente com suas línguas se tocando), Mobilidade (capacidade de alçar voo) e Letargia (abelhas com pouca movimentação que permaneciam paradas por longos períodos, e/ou com contrações involuntárias). Também foi avaliada a taxa de mortalidade, sendo consideradas mortas as abelhas que não apresentaram qualquer tipo de movimento.

Para a avaliação dos efeitos da exposição do glifosato no comportamento das abelhas por meio do contato, foram testadas as mesmas concentrações da formulação comercial do glifosato utilizado no teste de ingestão (0, 0,01 e 1 mL.L<sup>-1</sup>).

O teste de contato também seguiu a metodologia de Miranda *et al.* (2003), com modificações. Nesse teste, as abelhas em estado de dormência por refrigeração, foram dispostas em suas respectivas gaiolas, onde foi realizada a aplicação do produto diluído em água nas seguintes concentrações: 0,0 (Grupo Controle), 0,01 mL.L<sup>-1</sup> e 1 mL.L<sup>-1</sup> do produto diluído em água destilada. As concentrações do glifosato foram aplicadas nas abelhas por meio de um aspersor manual, borrifadas diretamente nas abelhas, com o objetivo de simular a aplicação no herbicida no ambiente. Assim como no teste de ingestão, foram realizadas 10 repetições, com 10 animais para cada concentração testada. Os indivíduos do Grupo Controle foram pulverizados apenas com água destilada. Após 24h da aplicação do agrotóxico, as interações sociais de Contato, (antenação e trofalaxia) e Mobilidade (capacidade de alçar voo) das abelhas foram registrados, durante 30 minutos. A taxa de mortalidade das abelhas expostas ao glifosato também foi calculada.

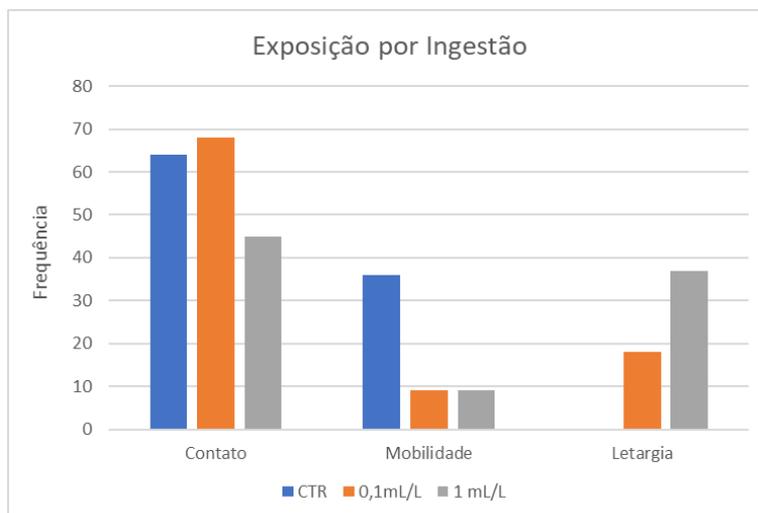
Em ambos os experimentos de exposição (ingestão e contato), as abelhas expostas ao herbicida foram eutanasiadas pelo método de congelamento e os indivíduos do Grupo Controle foram devolvidos ao meio, em local próximo às caixas de apicultura de onde foram retirados.

Os resultados da observação das interações sociais das abelhas expostas ao glifosato pelo método de ingestão e pulverização foram apresentados como frequência absoluta, indicando assim, o número de vezes que o evento foi registrado.

### 3. Resultados

A presença do glifosato interferiu de forma significativa nas interações sociais das abelhas, expostas ao herbicida pela via de ingestão e contato (pulverização). No teste de ingestão, a frequência das interações sociais das abelhas variou significativamente em relação as concentrações do glifosato testadas. As interações de CONTATO (antenação e trofalaxia) foram observadas nas abelhas do Grupo Controle (64 registros) e na menor concentração testada (0,01 mL.L<sup>-1</sup>), com 68 registros. A menor frequência da interação de contato (45 registros) foi observada nas abelhas alimentadas com 1 mL.L<sup>-1</sup> do herbicida (Figura 1).

**Figura 1** - Frequência absoluta das interações sociais de *A. mellifera* alimentadas durante 24 h com mel acrescido de solução de 0 (Grupo Controle), 0,01 e 1 mL.L<sup>-1</sup> de glifosato.



Fonte: Autores.

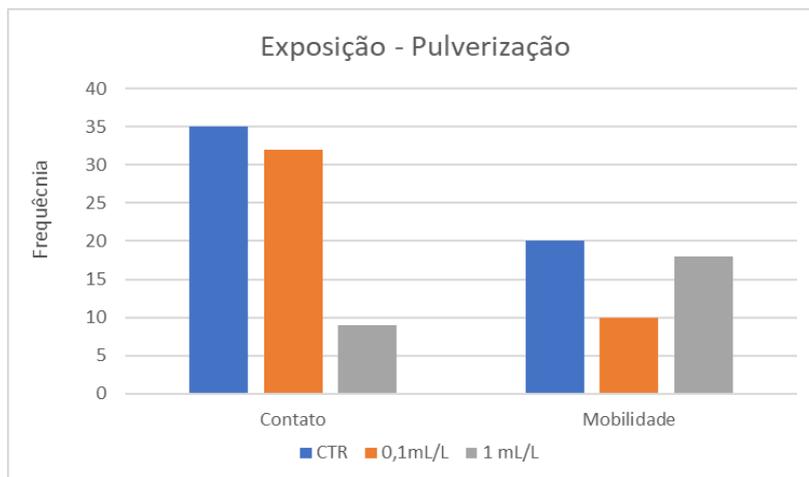
Em relação a Mobilidade, a maior frequência desse comportamento (36 registros) foi observada nas abelhas do Grupo Controle, quando comparadas com os grupos alimentados com o glifosato, sendo registrados apenas 9 interações, em ambas as concentrações testadas.

Para o comportamento de Letargia, a maior frequência foi observada nos animais alimentados com 1 mL.L<sup>-1</sup> (37 interações), quando comparados com as abelhas do alimentadas com 0,01 mL L<sup>-1</sup> do herbicida (18 interações). O comportamento letárgico não foi observado nas abelhas do Grupo Controle, que foram alimentadas somente com o mel, sem a presença do glifosato (Figura 1).

Nos testes de pulverização, as interações de Contato foram menores nas abelhas pulverizadas com 1 mL.L<sup>-1</sup> do glifosato (9 interações), em comparação com o Grupo Controle e com a concentração de 0,01 mL.L<sup>-1</sup> (Figura 2), onde foram observadas, respectivamente, 35 e 32 interações de contato entre as abelhas.

A Mobilidade foi registrada em todos os tratamentos, sendo a menor frequência (10 interações) observada nos animais expostos a 0,01 mL.L<sup>-1</sup> do herbicida (Figura 2), quando comparado com o Grupo Controle (20 interações) e as abelhas expostas a 1 mL.L<sup>-1</sup> do herbicida (18 interações). O comportamento de Letargia não foi registrado, devido ao alto valor de mortalidade das abelhas expostas ao glifosato pela via de pulverização.

**Figura 2** - Frequência absoluta das interações sociais de *A. mellifera* pulverizadas com solução de 0 (Grupo Controle), 0,01 e 1 mL.L<sup>-1</sup> de glifosato.



Fonte: Autores.

Em relação a mortalidade, em todos os testes de exposição ao glifosato foram observadas abelhas mortas (Tabela 1), sendo a maior taxa encontrada nos animais do teste de pulverização (60%), quando comparada com o teste de ingestão (30%). No teste de pulverização, foram observadas 15% de mortalidade das abelhas do Grupo Controle.

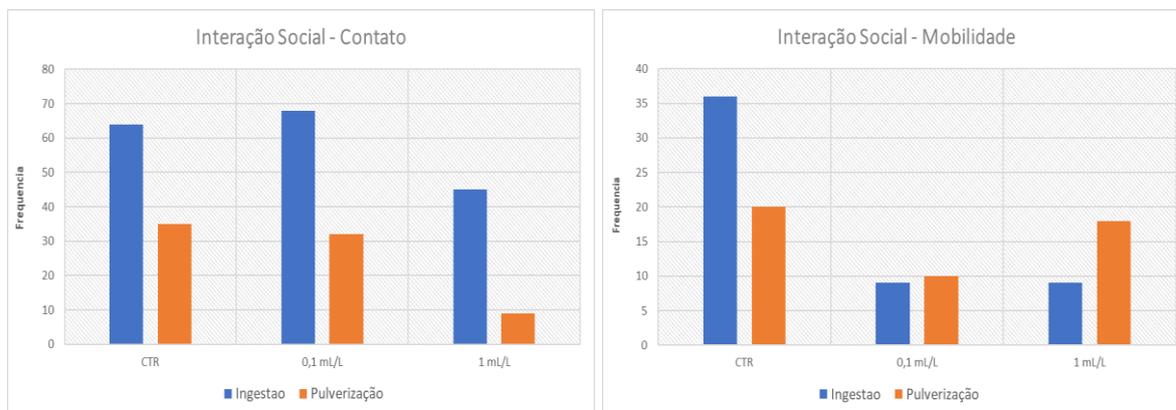
**Tabela 1** - Taxa de mortalidade individual e total (%) de abelhas *Apis mellifera* expostas a 0 (Grupo Controle), 0,01 e 1 mL.L<sup>-1</sup> do herbicida glifosato, nos testes de exposição via ingestão e contato (pulverização).

	Concentração de glifosato (mL.L <sup>-1</sup> )			Taxa de Mortalidade Total
	Controle (n=100)	0,01 (n=100)	1 (n=100)	
Ingestão	0	5	9	14
Pulverização	15	25	51	91

Fonte: Autores.

Comparando-se os tipos de exposição ao glifosato, ingestão e pulverização, nas diferentes concentrações, observa-se que a menor frequência do comportamento de Contato foi registrada nas abelhas que foram pulverizadas com o herbicida, em todos as concentrações (Figura 3A). Em relação a Mobilidade, a menor frequência dessa interação foi observada nas abelhas pulverizadas do Grupo Controle, quando comparada com as abelhas da exposição de ingestão. Na menor concentração testada (0,01 mL.L<sup>-1</sup>), o tipo de exposição não interferiu na frequência de interações, enquanto que, para a maior concentração do glifosato, foram observadas um número maior na frequência da mobilidade das abelhas (Figura 3B).

**Figura 3** - Frequência absoluta das interações sociais de Contato (A) e Mobilidade (B) de *A. mellifera* expostas a 0 (Grupo Controle), 0,01 e 1 mL.L<sup>-1</sup> de glifosato, nas vias de exposição de Ingestão e Pulverização.



Fonte: Autores.

#### 4. Discussão

Os comportamentos desenvolvidos ao longo da história evolutiva das abelhas sociais denotam a grande importância da sociabilidade para estes insetos, como é o caso da *Apis mellifera*, que apresenta comportamentos sociais superiormente complexos (eusocialidade) (Michener, 1969). Assim, as interações sociais de contato entre indivíduos avaliados em nosso trabalho, são essenciais para a manutenção e o desenvolvimento pleno das colmeias.

A trofalaxia é um comportamento exclusivo de insetos sociais, tais como abelhas, vespas, cupins e formigas que envolve a transferência direta do alimento líquido via regurgitação (Suárez & Thorne, 2000; Moreira *et al.*, 2007), sendo observada entre operárias adultas, ou entre operárias e larvas (Oliveira, 2019). A antenação (contato de antenas entre duas ou mais abelhas) também é um comportamento típico de insetos sociais, utilizado para troca de informações entre os indivíduos. Nas abelhas, sabe-se há algum tempo que os receptores gustativos são encontrados principalmente nas antenas e segmentos distais do primeiro par de pernas (Frings & Frings, 1949). Além disso, o contato das abelhas são comportamentos de comunicação que auxiliam na troca de informações entre indivíduos, e feromônios são liberados durante esse processo, com o intuito de auxiliar no agrupamento e na orientação das abelhas (Wolff *et al.*, 2006).

As interações de contato foram menores nas abelhas expostas a maior concentração do herbicida (1 mL.L<sup>-1</sup>), o que significa que podem ter sido influenciados pela exposição ao glifosato, tanto pela ingestão, quanto pela pulverização. Desta maneira, é provável que a exposição a concentrações mais elevadas de glifosato interfere nesse tipo de interação social.

Além disso, segundo Fent *et al.* (2020) a contaminação de abelhas na fase de nutrízes com doses letais ou subletais do glifosato pode afetar a quantidade e qualidade da geleia produzida, afetando a nutrição, alterações comportamentais e desenvolvimento da colônia como um todo. Dessa forma, a presença do glifosato pode interferir nos comportamentos de trofalaxia em abelhas e outros insetos, que possuem o hábito de comunicarem-se ao entrarem em contato com algum tipo de distúrbio (Domingos & Gonçalves, 2014). Tal fato pode explicar a menor da interação social de contato nas abelhas alimentadas com a maior concentração do glifosato (1 mL.L<sup>-1</sup>). Nos testes de pulverização, a maior concentração testada também interferiu nas interações de contato. Comparando-se o método de exposição, a menor frequência das interações sociais ocorreram nas abelhas que receberam a pulverização (Figuras 3A e 3B). Esse resultado pode estar relacionado ao método de exposição, visto que, até no grupo controle, as abelhas apresentaram mais interação do tipo antenação e trofalaxis. Cabe salientar que nesse tipo de exposição, a mortalidade também foi maior, inclusive no Grupo Controle, onde as abelhas foram pulverizadas somente com água destilada. Esse resultado pode estar relacionado com a metodologia da aplicação, que

pode ter ocasionado estresse nas abelhas estudadas.

Estudos recentes evidenciaram que, mesmo em exposições curtas (4h) à concentrações subletais, o glifosato pode alterar a expressão de genes relacionados aos processos metabólicos e biossintéticos de *A. mellifera* (Scheffer, 2022). A molécula dessa herbicida parece atuar na microbiota intestinal das abelhas, uma vez que o papel da microbiota bem estabelecida e equilibrada na saúde desses insetos está associada a nutrição, digestão e metabolização de alimentos, biossíntese de nutrientes, desintoxicação, proteção contra patógenos oportunistas e, conseqüentemente, no sistema imunológico (Engel *et al.*, 2012; Kwong & Moran, 2016; Rodrigues *et al.*, 2021). Esse fato pode estar relacionado com a maior mortalidade das abelhas expostas a maior concentração do glifosato. Sabe-se que as abelhas possuem menor número de genes referentes a desintoxicação (Claudianos *et al.*, 2006), o que possivelmente as torna mais sensíveis à exposição a agrotóxicos.

Além do contato, a mobilidade das abelhas também parece ter sido afetada pela presença do glifosato, visto que, a menores frequências dessa interação foram observadas nos animais expostos ao herbicida. Stanley e Raine, (2016), sugerem que o comportamento de forrageamento de abelhas pode ser alterado pela exposição sub-letal a diferentes concentrações de pesticidas aplicados no campo.

A alta mobilidade observada nas abelhas do Grupo Controle (Figura 3B) pode ter relação com o período em que os testes de pulverização foram realizados, considerando que estes foram realizados em temperatura ambiente e que a temperatura climática média no município de Buri/SP foi maior no período do segundo método. Nos meses de julho e agosto no ano de 2019, período em que ocorreu o teste de ingestão, a média climática foi de 23°C, enquanto que, nos meses de setembro e outubro do mesmo ano – período em que o teste de pulverização foi realizado – a média climática foi de 25°C e 26°C respectivamente, segundo dados fornecidos pelo *Weather Spark* (Weatherspark.com, [s. d.]).

No estado de São Paulo, os meses do ano em que houve menor número de relatos de acidentes envolvendo abelhas, foram os de julho e agosto. Considerando, deste modo, a possível relação entre o aumento da temperatura e a alta atividade desta espécie (Mello *et al.*, 2003), o contato com o herbicida no período dos testes de pulverização pode ter ocasionado essa resposta dos indivíduos, isso porque, além da sensibilidade advinda do baixo número de genes de desintoxicação (Claudianos *et al.*, 2006), essas também demonstram problemas quando expostas a aumento de temperaturas entre 1 e 2 °C (Groh *et al.*, 2004).

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

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

A observação dos indivíduos no presente estudo demonstrou, de forma simultânea, letargia, problemas ao alçar voo e a morte de indivíduos expostos ao herbicida. Abraham *et al.* (2018) sugere que a *A. mellifera*, quando exposta ao glifosato, apresenta taxas de morte significativas na concentração recomendada pelo fabricante, principalmente por metodologia de pulverização, condizente ao modo de aplicação em campos agrícolas.

Nossos dados demonstram uma maior mortalidade nas concentrações de 1 mL, tanto no método de ingestão quanto de pulverização (Figura 2). A mortalidade das abelhas, entre as duas metodologias, foi maior no método de pulverização.

Entretanto, a gaiola controle também demonstrou mortalidade nesta metodologia (15%). Isso pode estar relacionado aos meses em que esses testes foram realizados ou a metodologia da aplicação, que pode ter deixado as abelhas mais estressadas.

Como já mencionado, houve um aumento na temperatura climática entre os métodos. Acreditamos que essa variação da temperatura pode ter afetado diretamente a fisiologia das abelhas. De acordo com Domingos e Gonçalves (2014), *A. mellifera* possui a capacidade de controlar o clima da colmeia através de mecanismos secundários que promovem a termorregulação, como o hábito de aquecer ou resfriar a colmeia por meio do agrupamento e do bater de asas em conjunto. Entretanto, com a ação do glifosato em sua fisiologia, essa capacidade pode ter sido afetada de forma negativa, o que acarretou a resposta ineficaz desses mecanismos, impossibilitando os animais de regularem a alta temperatura do interior da caixa em relação ao meio. Helmer *et al.* (2014) relatou problemáticas no aparato responsável pela regulação térmica de *A. mellifera* quando exposta durante dez dias ao herbicida glifosato, a valores menores que 1% da dose letal (DL50) correspondente às abelhas (1,25 mL.L<sup>-6</sup>, 2,50 mL.L<sup>-6</sup> e 5,0 mL.L<sup>-6</sup>).

Com um déficit dos mecanismos responsáveis pela termorregulação, obtém-se como resultado o desencadeamento de efeitos nocivos para os indivíduos, como deformações corporais, baixo desempenho das operárias e bater irregular de asas (Domingos & Gonçalves, 2014). Também consta na bibliografia avarias cerebrais, desenvolvimento anômalo e morte do organismo com o aumento de 1 ou 2°C, independente da fração de tempo (Groh *et al.*, 2004). Considerando a necessidade do uso motor do organismo para realização dessa atividade, a exposição ao agrotóxico pode ter reduzido a capacidade de respostas ao estímulo externo ocasionado assim a mortalidade desses indivíduos.

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

## 5. Conclusão

Verificou-se que a influência do glifosato por ingestão e pulverização resultou em problemas comportamentais como diminuição das interações de contato (antenação e trofalaxis), baixa mobilidade e letargia, além de mortalidade. De forma geral, nos dois tipos de exposição (ingestão e pulverização) com a menor concentração testada (0,01 mL.L<sup>-1</sup>), foram observadas maior frequência de contato e menor mobilidade das abelhas. Por outro lado, as abelhas expostas a 1 mL.L<sup>-1</sup> de glifosato apresentaram menor contato e maior mobilidade e letargia, além de maior taxa de mortalidade das abelhas. Também foi observada uma relação direta entre o aumento da concentração de glifosato e as alterações comportamentais, o que corrobora com a hipótese levantada. Assim, concluímos que a exposição ao glifosato, pela via de ingestão ou contato, ocasiona efeitos nas interações sociais em indivíduos de *A. mellifera*.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fazenda Escola Lagoa do Sino (FELS), do campus Lagoa do Sino, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) por todo suporte técnico e logístico para o desenvolvimento desta pesquisa. Ao Prof. Dr. José Augusto de Oliveira David pela leitura crítica do manuscrito e contribuições.

## Referências

Abraham, J., Benhotons, G. S., krampah, I., Tagba, J., Amissah, C. & Abraham, J. D. (2018). Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 166(8): 695–702. <https://doi.org/10.1111/eea.12694>

AGROFIT (2020). Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Consulta de Ingrediente Ativo 2020. [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons).

- Amarante Junior, O. P., Santos, T. C. R., Brito, N. M. & Ribeiro, M. L. (2002). Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, 25(4): 589–593. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>
- Bacon, M.-H., Vandelac, L., Gagnon, M.-A., & Parent, L. (2023). Poisoning regulation, research, health, and the environment: The Glyphosate-based herbicides case in Canada. *Toxics*, 11(2): 121. <https://doi.org/10.3390/toxics11020121>
- Balbuena, M. S., Tison, L., Hahn, M.-L., Greggers, U., Menzel, R., & Farina, W. M. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology*, 218(17): 2799–2805. <https://doi.org/10.1242/jeb.117291>
- Berg, C.J., King, H. P., Delenstarr, G., Kumar, R., Rubio, F., & Glaze, T. (2018). Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees. *PLOS ONE*, 13(7): e0198876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198876>
- Claudianos, C., Ranson, H., Johnson, R. M., Biswas, S., Schuler, M. A., Berenbaum, M. R., Feyerisen, R., & Oakeshott, J. G. (2006). A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Molecular Biology*, 15(5): 615–636. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x>
- Costa, L. G. de L., Barchuk, A. R. & Teixeira, I. R. do V. (2020). Effects of the Neonicotinoid Imidacloprid on the feeding behavior of *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. *Revista Agrogeoambiental*, 12(1). <http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v12n120201411>
- De Jong, D. (1996). Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. *Bee World*, 77(2): 67–70. <https://doi.org/10.1080/0005772x.1996.11099289>
- Domingos, H. G. T. & Gonçalves, L. S. (2014). Termorregulação de abelhas com ênfase em *Apis mellifera*. *Acta Veterinaria Brasilica*, 8(3): 151–154. <https://doi.org/10.21708/avb.2014.8.3.3491>
- Engel, P.; Martinson, V. G. & Moran, N. A. (2012). Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(27): 11002–11007.
- Faita, M. R., Oliveira, E. M., Alves-Júnior, V. V., Orth, A. I. & Nodari, R. O. (2018). Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere*, 211: 566–572. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.189>
- Farina, W. M., Balbuena, M. S., Herbert, L.T., Goñalons, C. M. & Vázquez, D. E. (2019). Effects of the herbicide glyphosate on honey bee sensory and cognitive abilities: Individual impairments with implications for the hive. *Insects*, 10(10): 354. <https://doi.org/10.3390/insects10100354>
- Fent, K., Haltiner, T., Kunz, P. & Christen, V. (2020). Insecticides cause transcriptional alterations of endocrine related genes in the brain of honey bee foragers. *Chemosphere*, 260: 127542.
- Freitas, B. M. & Pinheiro, J. N. (2010). Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros. *Oecologia Australis*, 14(1): 282–298. <https://doi.org/10.4257/oeco.2010.1401.17>
- Frings, H. & Frings, M. (1949). The loci of contact chemoreceptors in insects: a review with new evidence. *The American Midland Naturalist*. 41(3): 602–658.
- Galli, A. J. B. & Montezuma, M. C. (2005). Glifosato: Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura. Santo André: ACADCOM Gráfica e Editora.
- Groh, C., Tautz, J. & Rossler, W. (2004). Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(12): 4268–4273. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400773101>
- Helmer, S. H., Kerbaol, A., Aras, P., Jumarie, C. & Boily, M. (2014). Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11): 8010–8021. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2879-7>
- Herbert, L. T., Vázquez, D. E., Arenas, A. & Farina, W. M. (2014). Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behavior. *The Journal of Experimental Biology*, 217(19): 3457–3464. <https://doi.org/10.1242/jeb.109520>
- Imperatriz-Fonseca, V. L. & Joly, C. A. (2017). Capítulo 1 - Avaliação polinizadores, polinização e produção de alimentos da Plataforma Intergovernamental de Biodiversidade e Serviços de Ecossistemas (IPBES). In: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE), Org. Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global. Brasília, DF: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 17–38.
- Jacob, C. R. O., Zanardi, O. Z., Malaquias, J. B., Silva, C. A. S., & Yamamoto, P. T. (2019) The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere*, 224: 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.105>
- Jay, S. C. (1986) Spatial management of honeybees on crops. *Annual Review of Entomology*, 31: 49–65. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.31.010186.000405>
- Kasiotis, K. M., Anagnostopoulos, C., Anastasiadou, P. & Machera, K. (2014). Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC–MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees. *Science of the Total Environment*, 485–486: 633–642. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.042>
- Kwong, W. K. & Moran, N. A. (2016). Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews Microbiology*, 14(6): 374–384.
- Mello, M. H. S. H., Silva, E. A. & Natal, D. (2003). Abelhas africanizadas em área metropolitana do Brasil: abrigos e influências climáticas. *Revista de Saúde Pública*, 37(2): 237–241. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102003000200012>
- Michener, C. D. (1969). Comparative social behavior of bees. *Annual Review of Entomology*, 14(1): 299–342. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.14.010169.001503>

- Miranda, J. E., Navickiene, H. M. D., Nogueira-Couto, R. H., Bortoli, S. A., Kato, M. J., Bolzani, V. S. & Furlan, M. (2003). Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Apidologie*, 34(4): 409–415. <https://doi.org/10.1051/apido:2003036>
- Moreira, D. D. O., Viana-Bailez, A. M., Ferreira, F. F., Erthal Junior, M., Carrera, F. & Samuels, R. I. (2007). Trofalaxia oral entre operárias de *Acromyrmex subterraneus subterraneus* Forel 1893 (Formicidae: Attini) em mini-formigueiros, XVIII Simpósio de Mirmecologia Biológico, 69(2), 300–402.
- Oliveira, G. (2019). Desempenho produtivo, reprodutivo e resposta fisiológica de abelhas africanizadas que receberam suplementação alimentar. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO.
- Oliveira, M. L. & Cunha, J. A. (2005). Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na Floresta Amazônica? *Acta Amazonica*, 35(3): 389–394. <https://doi.org/10.1590/s004459672005000300013>
- Rodrigues, S. P., Da Silva, J. C. I., De Oliveira, T. C., Da Silva, L. I. & Menezes, N. C. (2021) O papel da microbiota bacteriana intestinal de abelhas eussociais: uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 10(14): e30101421623-e30101421623
- Rubio, F., Guo, E. & Kamp, L. (2014). Survey of glyphosate residues in honey, corn and soy products. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 5(1). <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000249>
- Scheffer, J. da L. (2022). Efeito de dose letal e subletal do herbicida glifosato no transcriptoma de abelhas *Apis mellifera* africanizadas na fase de campeiras. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
- Silva, P. H. O. S., Corrêa, F. R., da Silva, N. F., Cavalcante, W. S. da S., Ribeiro, D. F. & Rodrigues, E. (2023). Eficiência de herbicidas pré-emergentes no manejo de plantas daninhas na cultura da soja. *Brazilian Journal of Science*, 2(4): 21–31. <https://doi.org/10.14295/bjs.v2i4.267>
- Singh, S., Kumar, V., Gill, J. P. K., Datta, S., Singh, S., Dhaka, V., Kapoor, D., Wani, A. B., Dhanjal, D. S., Kumar, M., Harikumar, S. L. & Singh, J. (2020). Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *International Journal Environmental Research Public Health*, 17(7519). <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/20/7519>
- Sousa, J. R. L., Amarante Junior, O. P., Brito, N. M. & Franco, T. C. R. S. (2013). Ação de pesticidas sobre abelhas: Avaliação do risco de contaminação de méis. *Acta Tecnológica*, 8(1): 28–36.
- Stanley, D. A & Raine, N. E. (2016). Chronic exposure to a Neonicotinoid pesticide alters the interactions between bumblebees and wild plants. *Functional Ecology*, 30: 1132–1139. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12644>
- Suárez, M. E. & Thorne, B. L. (2000). Rate, amount, and distribution pattern of alimentary fluid transfer via trophallaxis in three species of termites (Isoptera: Rhinotermitidae, Termopsidae). *Annals of the Entomological Society of América*, 93(1): 145–155.
- Thompson, H. M., Levine, S. L., Doering, J., Norman, S., Manson, P., Sutton, P. & Von Mérey, G. (2014). Evaluating exposure and potential effects on honeybee brood (*Apis mellifera*) development using glyphosate as an example. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10(3): 463–470. <https://doi.org/10.1002/ieam.1529>
- WeatherSpark.com, [n.d.] [viewed 5 November 2021]. Clima, condições meteorológicas e temperatura média por mês de Buri (Brasil) - Weather Spark [online]. Minneapolis. Available from: <https://pt.weatherspark.com/y/30060/Clima-caracter%C3%ADstico-em-Buri-Brasil-durante-o-ano>
- Wolff, L. F., Pereira, F. M., Lopes, M. T. R., Camargo, R. C. R. & Vieira Neto, J. M. (2006). Povoamento das colméias (Embrapa Meio-Norte - Documentos 146). Teresina: Embrapa Meio-Norte.
- Zgurzynski, M. I. & Lushington, G. H. (2019). Glyphosate impact on *Apis mellifera* navigation: A combined behavioral and cheminformatics study. *EC Pharmacology and Toxicology*, 7(8): 806–824.