

Riscos de Pesticidas sobre as Abelhas

Roberta Cornélio Ferreira Nocelli¹; Thaisa Cristina Roat²; Elaine Cristina Mathias da Silva Zacarin³; Osmar Malaspina⁴

Resumo

As abelhas são os principais agentes polinizadores, tanto dos remanescentes de áreas nativas quanto das principais plantas cultivadas. As abelhas estão diretamente ligadas ao ecossistema onde ocorrem e são responsáveis por cerca de 40% a 90% da polinização de fanerógamas dependendo do ecossistema considerado, atuando na manutenção do fluxo gênico e diversidade genética vegetal. A polinização realizada pelas abelhas não é somente uma função crítica nos ecossistemas, mas também essencial a uma gama de culturas ao redor do mundo. Por causa da ocupação intensa do ambiente pelo homem e as consequências das atividades humanas, as abelhas são um grupo muito susceptível à perda de seus habitats, por exigirem uma grande área florestada e por estarem sujeitas à ação de agrotóxicos em áreas agrícolas próximas a seus habitats. Além de altas concentrações de agrotóxicos que ocasionam a morte das abelhas, baixas concentrações podem causar alterações comportamentais que afetam todo o funcionamento da colmeia e, conseqüentemente, seus serviços aos ecossistemas e às culturas agrícolas. Nos últimos anos, as análises dos efeitos subletais de pesticidas vêm ganhando destaque, pois se sabe que as consequências das doses letais para as abelhas – a morte – mas pouco se sabe sobre a exposição às baixas doses dos pesticidas aos indivíduos e à colônia como um todo. Atualmente existe uma orientação mundial para o desenvolvimento de estudos de determinação

¹Bióloga, D.Sc. em Biologia Celular e Molecular, professora da Universidade Federal de São Carlos (UFSC), Araras, SP, roberta@cca.ufscar.br

²Bióloga, D.Sc. em Biologia Celular e Molecular, pós-doutoranda da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Rio Claro, SP, thaisaroat@yahoo.com.br

³Bióloga, D.Sc. em Biologia Celular e Molecular, professora da Universidade Federal de São Carlos (UFSC), Sorocaba, SP, ecmsbio@yahoo.com.br

⁴Biólogo, D.Sc. em Zoologia, professor da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, SP, malaspin@rc.unesp.br

das doses subletais dos pesticidas, mas a proposta usa como modelo a abelha *Apis mellifera*, não havendo metodologias propostas para as abelhas nativas sem ferrão. Muitos estudos disponíveis trabalham a verificação das alterações comportamentais não levando em consideração as alterações morfofisiológicas das abelhas expostas aos contaminantes ambientais. O emprego de análises morfológicas de órgãos das abelhas associado à detecção de marcadores celulares são procedimentos importantes na avaliação de risco dos pesticidas, uma vez que podem revelar alterações que não são evidentes por parâmetros comportamentais. A análise das alterações morfológicas nos órgãos-alvo de abelhas associado à avaliação dos biomarcadores celulares de estresse e morte celular são de grande importância para o estudo ecotoxicológico de abelhas, principalmente quando os protocolos convencionais não são suficientes para responder os questionamentos sobre o efeito de dosagens subletais a longo prazo.

Palavras-chave: abelhas nativas, inseticidas, doses subletais.

Risks of Pesticides on Bees

Abstract

Bees are the main pollinators, both of the remaining wild areas as the main crops. Bees are directly linked to the ecosystem where they occur, and are responsible for about 40-90% of seagrass pollination depending on the ecosystem considered, working in the maintenance of gene flow and plant genetic diversity. Pollination performed by honeybees is not only a critical role in ecosystems, but also essential to a range of crops around the world. Due to the onslaught of the environment by man and the consequences of human activities, the bees are a group highly susceptible to loss of their habitats, by requiring a large forested area and they are subject to the action of pesticides in agricultural areas close to their habitats. In addition to high concentrations of pesticides leading to death of bees, low concentrations can cause behavioral changes that affect the overall operation of the hive, and consequently their services to ecosystems and agricultural crops. In recent years, the analysis of sublethal effects of pesticides has been gaining attention because everyone knows what the consequences of the lethal doses for the bees - death - but little is known about exposure to low doses of pesticides to individuals and the colony as a whole. Actually, there is a global orientation to the

development of studies for the determination of sublethal doses of pesticides, but this methods uses as a model bee *Apis mellifera*, with no proposed methodologies for the native stingless bees. Many studies available have work to verify the behavioral changes, but do not take into account changes in the morphophysiology of bees exposed to environmental contaminants. The use of morphological analysis of organs of bees, coupled with the detection of cellular markers, are important procedures in risk assessment of pesticides, since it can reveal changes that are not very evident. The analysis of morphological changes in target organs of bees, associated with the evaluation of biomarkers of cellular stress and cell death are of great importance to the ecotoxicological study of bees, especially when conventional protocols are not sufficient to answer the questions about the effect of sublethal doses in the long term.

Keywords: stingless bees, insecticides, sublethal doses, toxicity, pollination.

Introdução

A ordem Hymenoptera é a terceira maior em número de espécies da classe Insecta, da qual fazem parte formigas, vespas e abelhas. É a mais importante para a conservação de espécies vegetais e animais, por abrigar o maior número de polinizadores, que encontram no néctar e pólen sua principal fonte de alimento e energia (NOGUEIRA-NETO, 1997; SILVA, 2006).

A polinização é um dos principais mecanismos de manutenção da biodiversidade. É o primeiro passo no processo reprodutivo das plantas superiores, essencial para quase todos os sistemas produtivos terrestres. A maioria dos ecossistemas, incluindo os agroecossistemas, depende da diversidade de polinizadores para manter a biodiversidade global (FAO, 2010; KEVAN, 1999). As abelhas são os principais agentes polinizadores responsáveis por polinizar mais de 70% das angiospermas e cerca de um terço das culturas agrícolas. São os mais importantes polinizadores para a agricultura, que fornecem alimento para mais de 176 países (FAO, 2005; KEVAN, 1999).

No Brasil, além da espécie *Apis mellifera* africanizada, híbrido entre abelhas africanas e europeias, temos mais de 1.500 espécies de abelhas nativas, distribuídas em quase 300 gêneros (MALASPINA,

1979; SILVEIRA et al., 2002) que são responsáveis pela polinização de 30% a 90% da flora nativa, dependendo do ecossistema considerado (KERR et al., 2001).

Para os agroecossistemas, que são quase que totalmente dependentes da polinização pelas abelhas, essencial para a produção de alimentos com qualidade, essa polinização nunca foi devidamente valorizada por falta de conhecimento por parte dos agricultores e profissionais especializados que, não considerando os recursos naturais que as abelhas exigem, dificultam o estabelecimento do quanto a produção de alimentos é dependente desses polinizadores e quanto a conservação de recursos naturais compensa o serviço feito pelas abelhas (FAO, 2005, 2010).

O desaparecimento inexplicado de até 80% de colmeias na Europa e Estados Unidos desde 2006 preocupa por suas consequências ecológicas e econômicas e a polinização que até então era vista como um serviço gratuito prestado pelo ecossistema, começou a ser valorizada monetariamente, chegando ao valor de U\$ 200 milhões por ano (FAO, 2005; FIORAVANTI, 2010; GUIMARÃES, 2010). De acordo com reportagem publicada pela revista *Veja*, em junho de 2010, atualmente os economistas avaliam os serviços de polinização em 540 milhões de dólares.

Apesar de tardia, a importância dos polinizadores ganhou destaque nas últimas décadas, sendo reconhecida pela *Convenção da Diversidade Biológica* (CDB). Em 2000, a *Conferência das Partes* (COP-5) aprovou a Iniciativa Internacional para Conservação e Uso Sustentável dos Polinizadores que ficou sob a responsabilidade da Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO), órgão ligado à Organização das Nações Unidas (ONU) que propôs um plano de ação mundial para trabalhar a questão. Em 2002, durante a COP-6, foram aprovadas três propostas de trabalho, entre elas a Iniciativa Brasileira de Polinizadores, que até hoje está em andamento (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2007).

Todas essas ações têm como premissa, primeiramente, que a segurança alimentar global está ameaçada pelo declínio das abelhas manejadas e pela perda de polinizadores selvagens, no Brasil chamadas de abelhas indígenas sem ferrão e, segundo, que a agricultura sustentável requer o desenvolvimento de alternativas de polinizadores sem se restringir a *Apis*, melhorando o manejo de habitats para polinizadores selvagens e melhorando as práticas de manejo da agricultura em geral (ALLSOP et al., 2008).

No entanto, as abelhas nativas brasileiras também sofrem com as ações antrópicas. As abelhas vêm desaparecendo de áreas agrícolas por causa da introdução de espécies exóticas, grandes áreas de monocultura, desmatamento para agricultura e pastagem e, principalmente, fragmentação de habitats e uso excessivo ou incorreto de pesticidas (VIANA; SILVA, 2010).

Em 2008, o Brasil consumiu cerca de 730 milhões de toneladas de agrotóxicos, tornando-se o maior consumidor do planeta, superando o então líder mundial, os Estados Unidos. Do total de agrotóxicos consumidos no Brasil, cerca de 30% são inseticidas e, desses, aproximadamente 40% são considerados tóxicos para as abelhas (FREITAS; PINHEIRO, 2010; INSTITUTO HUMANITAS UNISINOS, 2010).

Segundo Malaspina et al. (2008), os inseticidas podem afetar as abelhas principalmente por três modos de intoxicação: a) contato; b) ingestão e c) fumigação e, seus efeitos variam de morte causada por toxicidade aguda e efeitos a longo prazo provocando danos no funcionamento da colônia e diminuição da longevidade dos indivíduos.

Os primeiros estudos sobre toxicologia de inseticidas para abelhas datam da década de 1940 e tiveram início nos Estados Unidos e Europa. No Brasil, as primeiras pesquisas a respeito da toxicidade de inseticidas para abelhas aconteceram a partir de 1970 (MALASPINA, 1979). Por causa da importância econômica da *A. mellifera* africanizada, os estudos de toxicologia de inseticidas para abelhas realizados no Brasil tendem a focar essa espécie como modelo (cerca de 70%), sendo ainda escassos esses estudos com abelhas nativas.

O desaparecimento dos polinizadores dos agroecossistemas deve-se principalmente ao uso incorreto e excessivo de agrotóxicos, que coloca em risco colônias de abelhas de matas próximas que visitam esse local ou que polinizam áreas de cultivo, pois seus resíduos ficam nas flores e contaminam o néctar e o pólen. Preocupados com o desaparecimento de abelhas, Barnett et al. (2007) realizaram um levantamento a respeito do envenenamento das abelhas *A. mellifera* por inseticidas no Reino Unido entre 1989 e 2003 e constataram que esses foram causados, na maioria, por uso incorreto ou uso de produtos proibidos.

Antigamente, a intoxicação das abelhas por agrotóxicos era relacionada com a exposição letal, resultando em abelhas mortas próximas à colmeia. Hoje, a preocupação aumenta com os níveis de contaminação subletais que os inseticidas podem causar às abelhas, não levando à morte imediata, mas prejudicando seu comportamento,

desenvolvimento e capacidade de combater infecções, causando problemas crônicos provocados pela exposição em longo prazo. Redução da movimentação e da mobilidade, diminuição da capacidade de comunicação e de aprendizagem, dificuldades de retorno à colônia, no comportamento de forrageamento e na polinização foram observados em abelhas tratadas com doses subletais de inseticidas (BORTOLLI et al., 2003; DECOURTYE et al., 2005). A análise dos efeitos subletais a longo prazo é de grande importância para a melhor compreensão da biologia das abelhas e a sua adaptação em ecossistemas impactados e em agroecossistemas.

Métodos de Estudos dos Efeitos dos Pesticidas

No Brasil, muitas substâncias já foram comprovadas como sendo tóxicas para as abelhas. No entanto, como pode ser visto na Tabela 1, a grande maioria foi testada para *A. mellifera* africanizada, e apenas alguns deles foram testados de modo não padronizado para as abelhas nativas, com apenas seis espécies diferentes sendo testadas para poucos pesticidas cada.

Tabela 1. Relação dos pesticidas que tiveram sua toxicidade testada no Brasil para a abelha *Apis mellifera* e para abelhas nativas.

Inseticidas testados	Espécie	Inseticidas testados	Espécies
Abamectina	<i>Apis mellifera</i>	Abamectina*	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Acefato		Acefato*	<i>Trigona spinipes</i>
Ácido bórico		Ácido bórico*	<i>Scaptortigona postica</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i> (B.t.)		<i>Bacillus thuringiensis</i> (B.t.)*	<i>S. tubiba</i>
Bifenthrin		Carbaril	<i>T. spinipes</i>
Buprofezina		Cipermetrim	
Carbofenotion		Deltametrina*	<i>S. tubiba</i>
Cartap			<i>M. quadrifasciata</i>
Cihexatina		DDT*	<i>M. quadrifasciata</i>
Deltametrina			<i>S. postica</i>
DDT		Dicrotofós	<i>T. spinipes</i>
Enxofre		Dieldrin	
Espinosade		Espinosade*	<i>M. quadrifasciata</i>
Espirodiclofeno		Endosulfan	<i>T. spinipes</i>
Fipronil		Fenvalerate	
Fonicamide		Fipronil*	<i>S. postica</i>
Imidaclopride	<i>A. mellifera</i> africanizada		<i>Tetragonisca angustula</i>
Lindane			<i>T. fiebrigi</i>
Lufenurum		Heptacloro	<i>T. spinipes</i>
Malathion		Lindane*	
Metamidofós		Malatim*	<i>S. tubiba</i>
Metidationa			<i>T. angustula</i>
Metil paration			<i>T. fiebrigi</i>
Piriproxifeno			<i>T. spinipes</i>
Propargito		Metamidofós*	<i>M. quadrifasciata</i>
Tebufenozida		Metomil	<i>T. spinipes</i>
Tetradifona		Neem	<i>T. angustula</i>
Tiamethoxan			<i>T. fiebrigi</i>
		Paration	<i>T. spinipes</i>
		Permetrim	
		Tiametoxam*	<i>T. angustula</i>
			<i>T. fiebrigi</i>
		Tricloform	<i>S. tubiba</i>

A preocupação com a crescente demanda por substâncias químicas nas culturas agrícolas, fez com que várias organizações ao redor do mundo se mobilizassem e procurassem criar metodologias padronizadas para o estudo dos efeitos dessas substâncias sobre as abelhas.

Atualmente, as avaliações de risco dos pesticidas são realizadas de acordo com as orientações publicadas pelo *Protocolo Internacional para Testes Químicos da Organização para Cooperação e o Desenvolvimento Econômico* (OECD, 1998). Nele constam orientações para os testes de toxicidade aguda por administração oral e por contato baseadas, principalmente, nas diretrizes da Organização Europeia e do Mediterrâneo para Proteção das Plantas (EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION COUNCIL OF EUROPE, 1993) e nas propostas elaboradas pela Comissão Internacional das Relações Abelha-Planta (ICPBR, 1993).

Os testes são realizados, inicialmente, para determinação da DL50, com operárias adultas que são expostas a diferentes doses da substância testada adicionada à alimentação (toxicidade oral) ou aplicadas diretamente ao tórax (toxicidade por contato). Os experimentos são conduzidos em estufas do tipo BOD, com temperatura e umidade controlados, de acordo com as condições apresentadas pelas colônias de cada espécie em estudo. As abelhas são acondicionadas em caixas de madeira ou em potes plásticos e são observadas diariamente (Figura 1).



Foto: Clara T. Lourenço.

Figura 1. Fotos mostrando as metodologias utilizadas para a intoxicação das abelhas. a) Aplicação tópica e b) através da alimentação. Em c e d pode-se ver duas estufas do tipo BOD com as caixas de madeira (c) e os potes plásticos (d) para manutenção dos indivíduos durante os experimentos.

A partir das metodologias propostas para *A. mellifera* também estão sendo realizados testes com espécies de abelhas sem ferrão (Tabela 2).

Tabela 2. Pesticidas que já tiveram suas DL50 determinadas ou que estão em determinação pelo grupo no Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) (UNESP) Rio Claro, SP, de acordo com as orientações da OECD (1998).

		Recém-emergida	Operária forrageira
<i>Apis mellifera</i>	Ingestão	Fipronil	
		Fipronil	Fipronil
	Contato	Imidaclopride	Tiametoxan Acetamipride
<i>Scaptotrigona postica</i>	Ingestão	Imidaclopride	Fipronil
			Ácido Bórico
	Contato	Imidaclopride	Fipronil
<i>Melipona scutellaris</i>	Ingestão	Fipronil	
	Contato	Fipronil	

Além dos efeitos de toxicidade aguda que podem levar as abelhas à morte, os pesticidas podem também provocar alterações comportamentais nos indivíduos que, ao longo do tempo, acarretarão sérios prejuízos na manutenção da colônia. Segundo Medrzycki et al. (2003), em algumas circunstâncias, o efeito dos inseticidas nas abelhas não pode ser notado imediatamente, sendo necessárias avaliações das doses subletais para que seja possível observar sua influência na sobrevivência e comportamento das mesmas.

Efeitos dos Inseticidas sobre o Comportamento das Abelhas

Em suas doses letais, a maioria dos inseticidas exerce seus efeitos tóxicos nos insetos através de alterações na fisiologia do sistema nervoso, levando à morte por hiperexcitação ou paralisção das atividades. Os agrotóxicos, além do efeito de toxicidade que leva à morte, em baixas concentrações causam efeitos subletais, originando alterações cognitivas que desencadearão prejuízos na manutenção da

colônia. Redução da movimentação e da mobilidade, diminuição da capacidade de comunicação e de aprendizagem, dificuldades de retorno à colônia, no comportamento de forrageamento e na polinização foram observados em abelhas tratadas com doses subletais de inseticidas (BORTOLLI et al., 2003; DECOURTYE et al., 2005).

Alterações comportamentais, avaliadas através de ensaios do reflexo de extensão da probóscide (REP) e de deslocamento (Figura 2), mostram como estes compostos podem afetar as atividades de forrageamento e, conseqüentemente, o processo de polinização. O método REP visa reproduzir a interação entre abelha e planta. Quando a abelha forrageia e chega ao botão floral, ela instintivamente estende sua probóscide como reflexo dos receptores gustativos na antena, tarso ou outras partes que são estimuladas pelo néctar. Esse reflexo induz a abelha a coletar o néctar e memorizar o odor floral ali presente (DECOURTYE et al., 2005). Souza (2009), estudando os efeitos do fipronil, e Lambim et al. (2001), estudando o imidaclopride, dois inseticidas neonicotinoides, verificaram deficiências na aprendizagem e memória e dificuldades de locomoção. Utilizando o inseticida neurotóxico imidaclopride, Decourtye et al. (2004) verificaram que após 30 minutos de tratamento oral com doses subletais de imidaclopride, as abelhas apresentaram uma deficiência no aprendizado olfatório.

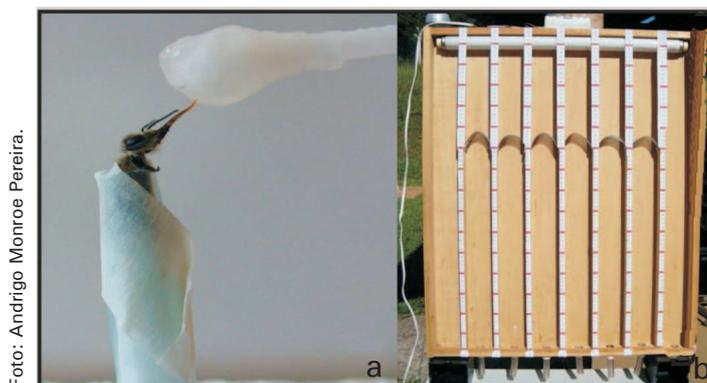


Foto: Andriago Monroe Pereira.

Figura 2. Metodologias utilizadas para avaliar as alterações da memória e aprendizado após a exposição aos pesticidas. a) reflexo de extensão da probóscide. b) raias utilizadas para os testes de deslocamento.

Carvalho et al. (2009) observaram que adultas de *A. mellifera* em contato com inseticidas tiametoxam e metidationa, por via oral e tópica, demonstraram distúrbios de coordenação motora, incapacidade de voo e prostração após as primeiras horas; mortalidade de 99% das abelhas após 30 horas de contaminação por abamectina; e movimentos desordenados e trêmulos após 1 hora do contato com deltametrina.

Deficiências nos processos de memorização, aprendizagem, capacidade olfatória e orientação espacial, além de dificuldades de locomoção podem, dependendo do número de indivíduos afetados, ter um grande impacto sobre o funcionamento da colônia como um todo, pois o mesmo está baseado na capacidade de aprendizagem e orientação das abelhas campeiras que, por sua própria atividade externa, é o indivíduo mais exposto à contaminação.

Para poder provocar essas reações, os agrotóxicos ou seus metabólitos precisam penetrar no organismo das abelhas e afetar determinados mecanismos celulares; isso pode se refletir em alterações morfológicas e/ou fisiológicas, mediadas por alterações na presença, ausência ou quantidade de determinadas proteínas.

Efeitos dos Inseticidas sobre a Morfofisiologia das Abelhas

As moléculas utilizadas nas formulações dos pesticidas, e também seus metabólitos, são ingeridas e/ou absorvidas pelo organismo das abelhas e podem exercer seus efeitos em diversos órgãos, alterando os processos celulares normais, ativando os mecanismos de detoxificação celular e, em última instância, levar à morte da célula.

Estudos realizados por Cruz et al. (2009) com o intestino larval de abelhas *A. mellifera*, tratadas via administração oral com fipronil e ácido bórico, mostraram sinais de citotoxicidade, com vacuolização citoplasmática e compactação da cromatina, sinais de morte celular. Estudos realizados por Jesus et al. (2007) sobre os efeitos do ácido bórico no intestino de operárias de *A. mellifera* mostraram que, mesmo após 5 dias de processo de recuperação da intoxicação, o epitélio intestinal ainda mostrava sinais degenerativos, sugerindo que o tempo de recuperação foi insuficiente para reparar os danos causados. Em um organismo com ciclo de vida de aproximadamente 35 dias, um período de 5 dias ou mais para recuperação pode ser inviável.

Estudos realizados por Ferreira (2010) sobre os efeitos do fipronil e do ácido bórico sobre o corpo gorduroso e os túbulos de Malpighi de operárias de *Scaptotrigona postica* mostraram várias alterações, resultado da citotoxicidade desses compostos que podem comprometer a sobrevivência dos indivíduos.

Outro órgão que vem sendo objeto de estudo é o sistema nervoso, por ser o principal alvo dos inseticidas e também por seu papel nos principais processos relacionados à polinização, como o aprendizado e a memória. Estudos realizados por Soares (2009) com o inseticida imidaclopride e por Souza (2009) e Roat (2009) com o fipronil sobre o sistema nervoso de abelhas *A. mellifera* africanizadas mostraram que, mesmo não havendo alterações morfológicas aparentes, esses inseticidas, em doses subletais, alteram a funcionalidade das células nervosas, principalmente em áreas relacionadas ao aprendizado e à memória.

Um método eficiente para identificar alterações fisiológicas nas células é o uso de marcadores celulares que podem ser proteínas de desintoxicação celular, de estresse celular ou proteínas ligadas à respiração celular.

O mecanismo de desintoxicação metabólica enzimática é a principal via para a resistência do inseto aos xenobióticos como sugerido, por exemplo, em operárias de *A. mellifera* africanizada expostas aos inseticidas organofosfatos (ATTENCIA et al., 2005) e em operárias de *A. mellifera* europeias expostas aos inseticidas piretroides (JOHNSON et al., 2006). Ela acontece, principalmente, pela ação protetora da enzima glutatona S-transferase, uma enzima de detoxificação que apresenta maior expressão em abelhas forrageiras, justamente os indivíduos que realizam tarefas fora da colônia e, portanto, têm maior contato com substâncias químicas presentes no meio.

Além do processo de desintoxicação metabólica, a ativação das proteínas de estresse celular pode contribuir para a resistência das abelhas aos xenobióticos. Essas proteínas são conhecidas como HSPs (Heat Shock Proteins) e elas são evolutivamente conservadas desde bactérias até humanos (ASHBURNER, 1982). As HSPs são classificadas em quatro famílias com base em sua massa molecular: HSP 90 (90 kDa), HSP 70 (70 kDa), HSP 60 (60 kDa) e as pequenas HSPs (GARRIDO et al., 2001). Os membros dessas famílias de HSPs, quando expressos, desempenham um papel central na proteção e manutenção de várias funções celulares vitais. Expressão de HSP 70 e HSP 90 foi detectada em glândulas salivares de larvas de *A. mellifera* expostas aos pesticidas (SILVA-ZACARIN et al., 2006).

O processo de respiração celular reflete a atividade metabólica da célula. Nesse processo, muitas enzimas estão envolvidas, entre elas, a citocromo oxidase (CO), que participa do complexo IV da cadeia respiratória catalisando o último passo da mesma, o principal meio de produção de energia das células. Roat (2010) demonstrou que abelhas *A. mellifera* africanizadas tratadas com doses subletais de fipronil apresentam uma maior atividade da cadeia respiratória através da marcação da CO, o que pode indicar reação à intoxicação causada pelo inseticida.

Alterações na fisiologia celular também indicam alterações no padrão de expressão gênica e, conseqüentemente, alteração qualitativas e/ou quantitativas das proteínas presentes nas células. Por isso, estudos das diferenças nos proteomas de células de abelhas expostas aos inseticidas em relação àquelas consideradas controle, podem nos mostrar mecanismos diferentes através dos quais as células estão reagindo à intoxicação.

Considerações Finais

É de extrema importância identificar o alcance dos agrotóxicos no ambiente e entender o impacto que os mesmos têm sobre a diversidade dos polinizadores e, conseqüentemente, sobre o processo de polinização.

O uso indiscriminado e irracional de agrotóxicos está submetendo os polinizadores a situações de estresse severo, que pode gerar prejuízos econômicos, fato evidenciado pela constante queda da densidade de abelhas nos arredores dos campos agrícolas em várias partes do mundo.

Recentemente, cientistas identificaram um fenômeno denominado *Colony Collapse Disorder* (CCD) nos Estados Unidos, onde apicultores chegaram a perder 90% de suas colmeias (ELLIS, 2007). A CCD é diagnosticada quando as abelhas operárias campeiras, encarregadas de coletar o néctar e o pólen nas flores, não retornam às colmeias. A CCD foi identificada, também, na Alemanha, Suíça e Península Ibérica. Contudo, as causas dessa alta mortalidade ainda não estão bem esclarecidas, sendo uma das hipóteses, a intoxicação das abelhas por agrotóxicos, cada vez mais utilizados na agricultura. No Brasil, principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, o desaparecimento das abelhas começa a ser motivo de preocupação, principalmente pela

mortalidade provocada pelos inseticidas. Entre 2008/2010 foi verificada a perda de aproximadamente 5 mil colmeias de abelhas africanizadas na região central do Estado de São Paulo (MALASPINA, 2010). Não estão nesses cálculos, as colônias de abelhas nativas.

Verificar o papel dos agrotóxicos sobre as abelhas, entender como os organismos reagem às doses subletais e identificar possíveis marcadores celulares que nos permitam perceber os danos no início do processo, pode trazer substanciais benefícios aos agroecossistemas. Entender o papel dos polinizadores como serviços ambientais dos ecossistemas, efetivo e necessário à produção agrícola mundial e, portanto, à segurança alimentar, é fator-chave na sustentabilidade das gerações futuras.

Referências

- ALLSOP, M. H.; LANGE, W. J.; VELDTMAN, R. Valuing Insect pollination service with costs of replacement. **PLoS One**, San Francisco, v. 3, n. 9, p. 1-8, 2008.
- ASHBURNER, M. The effects of heat shock and other stress on gene activity: an introduction. In: SCHLESINGER, M. J.; ASHBURNER, M.; TISSIÉRES, A. (Ed.). **Heat shock proteins: from bacteria to human**. New York: Spring Harbor Laboratory Press, 1982. p. 1-9.
- ATTENCIA, V. M.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C.; TOLEDO, V. de A, A, de Esterase activity in *Apis mellifera* after exposure to organophosphate insecticides (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, Chico, v. 45, n. 3, p. 587-595, 2005
- BARNETT, E. A.; CHARLTON, E. J.; FLETCHER, M. R. Incidents of bee poisoning with pesticides in the United Kingdom, 1989-2003. **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, 1.051–1.057, 2007.
- BORTOLLI, L.; MONTANARI, R.; MARCELINO, J.; MENDRZYCHI, P.; MAINI, S.; PORRINI, C. effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 56, n. 1, 63–67, 2003.
- CARELLI, G. As empresas descobrem que a biodiversidade significa dinheiro em caixa e que a saúde do negócio está vinculada à saúde do planeta. **Veja**, São Paulo, v. 43, n. 2168, jun. 2010. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/090610/matar-natureza-matar-lucro-p-148.shtml>>. Acesso em: 5 ago. 2010.
- CARVALHO, S. M.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, C. F.; BUENO FILHO, J. S. S.; BAPTISTA, A. P. M. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, 597–606, 2009.
- CRUZ, A. S.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O. Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee. **Cell Biology and Toxicology**, Dordrecht, v. 26, n. 2 p. 165-176, 2009.

DECOURTYE, A.; ARMENGAUD, M.; RENOU, M.; DEVILLERS, J.; CLUSEAU, S.; GAUTHIER, M.; PHAM-DELEGUE, M. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Pesticide of Biochemistry Physiology**, San Diego, v. 78, p. 83-92, 2004.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J.; GENECQUE, E.; LE MENACH, K.; BUDZINSKI, H.; CLUSEAU, S.; PHAM-DELEGUE, M. H. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybees *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 48, p. 242-250, 2005.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION COUNCIL OF EUROPE. Decision-making schemes for the environmental risk assessment of plant protection products honey bees. **Bulletin OEPP**, Malden, v.23, n. 1, 151-165, 1993.

ELLIS, J. **Colony Collapse Disorder (CCD) in honey bees**. Florida: University of Florida, 2009. (University of Florida. Publication, 150). Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/in720>>. Acesso em: 21 jul. 2010.

FAO. **Protección a los polinizadores**. 2005. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/esp/revista/0512sp1.htm>>. Acesso em: 23 abr. 2010.

FAO. **Polinizadores - cuestiones globales: biodiversidad**. 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/biodiversity/ecosystems/bio-pollinators/es/>>. Acesso em: 23 abr. 2010.

FERREIRA, R. A. C. **Análise morfológica e histoquímica do corpo gorduroso e dos túbulos de Malpighi de operárias adultas de *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) (Hymenoptera, Apidae) tratadas com fipronil e ácido bórico**. 2010, 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro.

FIORAVANTI, C. As asas dos alimentos: abelhas ganham valor na produção agrícola. **Pesquisa Fapesp**, São Paulo, n. 171, maio 2010. Disponível em: <[http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=4139&bd=1&pg=1&lg="](http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=4139&bd=1&pg=1&lg=)> &HYPERLINK "http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=4139&bd=1&pg=1&lg="bd=1" &HYPERLINK "http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=4139&bd=1&pg=1&lg="pg=1" &HYPERLINK "http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=4139&bd=1&pg=1&lg="lg=" >. Acesso em: 14 jun. 2010.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, 282-298, mar. 2010.

GARRIDO, C. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 286, p. 433-442, 2001.

GUIMARÃES, M. Colméia às moscas: síndrome misteriosa causa sumiço de abelhas na América e na Europa. **Pesquisa Fapesp**, São Paulo, jul. 2007. Disponível em: <[http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=3295&bd=1&pg=1&lg="](http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=3295&bd=1&pg=1&lg=)> &HYPERLINK "http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=3295&bd=1&pg=1&lg="bd=1" &HYPERLINK "http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=3295&bd=1&pg=1&lg="pg=1" &HYPERLINK "http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=3295&bd=1&pg=1&lg="lg=" >. Acesso em: 23 abr. 2010.

ICPBR. Discussion and recommendations of the fifth meeting. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE HAZARDS OF PESTICIDES TO BEES, 5., 1993, Wageningen. **Proceedings...** Wageningen: Shell International Petroleum Maatschappij, 1993. p. 10-14.

INSTITUTO HUMANAS UNISINOS. **Entrevista com Maria José Guazzelli**. Disponível em <http://www.ecodebate.com.br/2009/06/09/brasil-o-maior-consumidor-de-agrotoxicos-entrevista-especial-com-maria-jose-guazzelli/>. Acesso em 14 jun. 2010.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.; SARAIVA, A. M.; GONÇALVES, L. A Iniciativa Brasileira de Polinizadores e os avanços para a compreensão do papel dos polinizadores como produtores de serviços ambientais. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, p. 100–106, 2007. Suplement 1.

JESUS, D.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; CRUZ, A. S.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O. Epithelial renewal in the midgut of *Apis mellifera* after treatment with boric acid. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROSCOPIA E MICROANÁLISE, 21., 2007, Búzios. **Anais...** Búzios: Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2007.

JOHNSON, F. M.; WEN, Z.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Mediation of Pyrethroid Insecticide Toxicity to Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) by Cytochrome P450 Monooxygenases. **Journal of Economic Entomology**. College Park v. 99, n. 4, p. 1.046-1.050, 2006

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C. da; ASSIS, M. da G. P. de. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, Brasília, DF, n. 12, p. 20–41, set. 2001.

KEVAN, P. G. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 74, p. 373-393, 1999.

LAMBIN, M.; ARMENGAUD, C.; RAYMOND, S.; GAUTHIER, M. Imidacloprid Induced Facilitation of the Proboscis Extension Reflex Habituation in the Honeybee. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**. New York, v. 48, p. 129-134, 2001.

MALASPINA, O. **Estudo genético da resistência ao DDT e relação com outros caracteres em *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae)**, 1979, 81 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia de Invertebrados) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Rio Claro.

MALASPINA, O.; SOUZA, T. F.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; CRUZ, A. S.; JESUS, D. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 8., 2008, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: FUNPEC, Universidade de São Paulo, 2008. p. 41–48.

MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; SOUZA, T. F. Defesa de apiários e meliponários contra agrotóxicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 18.; CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 4., 2010, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: Confederação Brasileira de Apicultura, 2010. 1 CD-ROM.

MEDRZYCKI, P.; MONTANARI, R.; BORTOLOTTI, L.; SABATINI, A. G.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 56, n.1, p. 59-62, 2003.

NOGUEIRA NETO, P. Características diversas, distribuição geográfica e aclimação. In: NOGUEIRA NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997, p. 33 -38.

OECD. **Guidelines for the testing of chemicals**: section 2 - effects on biotic systems. Paris, 1998. 8 p. (OECD. Honey bees, Acute Oral and Contact Toxicity Test, n. 213). Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-213-honeybees-acute-oral-toxicity-test_9789264070165-en>. Acesso em: 8 fev. 2010.

OECD **Guidelines for the testing of chemicals**: section 2 - effects on biotic systems. Paris, 1998. 7 p. (OECD. Honey bees, Acute Oral and Contact Toxicity Test, n. 214). Disponível em: <<http://www.oecdbookshop.org/oecd/display.asp?K=5LMQCR2K7RON&DS=Test-No.-214-Honeybees-Acute-Contact-Toxicity-Test>>. Acesso em: 8 fev. 2010.

ROAT, T. C.; SOUZA, T. F.; NOCELLI, R. C. F.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; MALASPINA, O. Toxicological effects of sublethal doses of the insecticide fipronil on the nervous system of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). In: INTERNATIONAL BEEKEEPING CONGRESS – APIMONDIA, 41., 2009, Montpellier. **Abstracts and poster...** Montpellier: APIMONDIA, 2009.

ROAT, T. C. **Efeitos toxicológicos do inseticida fipronil em operárias e rainhas de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**: atividade neural e proteínas de desintoxicação. São Paulo: FAPESP, 2010. 69 p. (Relatório FAPESP Proc. 2008/05018-7).

SILVA, A. C. da. **Implantação da meliponicultura e etnobiologia de abelhas sem ferrão (*Melipona*) em comunidades indígenas no estado do Amazonas**. 2006. 196 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

SILVA-ZACARIN, E. C. M.; GREGORC, A.; MORAES, R. L. M. S. *In situ* localization of heat-shock proteins and cell death labelling in the salivary gland of acaricide-treated honeybee larvae. **Apidologie**, Paris, v. 37, p. 507-515, 2006.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. Origem, filogenia e biogeografia. In: SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras**: sistemática e identificação. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 2002. p. 29–41.

SOARES, H. M. **Avaliação dos efeitos de imidaclopride, sobre o sistema nervoso de *Apis mellifera* africanizada, através da expressão da proteína fos**. 2009. 46 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Rio Claro.

SOUZA, T.F. **Efeitos das doses subletais do fipronil para abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) por meio de análises morfológicas e comportamentais**. 2009. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Rio Claro.

VIANA, B.F.; SILVA, F.O. **Polinização por abelhas em agroecossistemas**. Disponível em: <http://www.apis.sebrae.com.br/Arquivos/16%C2%BA20Cong_Bras_Apic/Anais_1/POLINIZA%C3%87%C3%83O%20POR%20ABELHAS%20EM%20AGROECOSSISTEMAS.pdf>. Acesso em: 14 jun 2010.