#### INSTITUTO FEDERAL GOIANO DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO CENTRO DE EXCELÊNCIA EM BIOINSUMOS

## COORDENAÇÃO DE CAPACITAÇÃO EM BIOINSUMOS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *LATO SENSU* EM BIOINSUMOS IF GOIANO CÂMPUS CAMPOS BELOS

## BARBARA SOARES AIRES FRANÇA

ECOTOXICOLOGIA DE BIOINSUMOS: CONCENTRAÇÕES SEGURAS E NÃO SEGURAS DE BIOINSETICIDA À BASE DE Metarhizium anisopliae SOBRE A ABELHA Tetragonisca angustula

#### BARBARA SOARES AIRES FRANÇA

## ECOTOXICOLOGIA DE BIOINSUMOS: CONCENTRAÇÕES SEGURAS E NÃO SEGURAS DE BIOINSETICIDA À BASE DE Metarhizium anisopliae SOBRE A ABELHA Tetragonisca angustula

Monografía apresentada à Banca Examinadora do Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Bioinsumos do Instituto Federal Goiano como exigência parcial para obtenção do título de especialista em bioinsumos.

Orientador: Prof. Dr. Althiéris de Souza Saraiva

Campos Belos - GO 2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBi

França, Barbara Soares Aires

ECOTOXICOLOGIA DE BIOINSUMOS: CONCENTRAÇÕES SEGURAS E NÃO SEGURAS DE BIOINSETICIDA À BASE DE Metarhizium anisopliae SOBRE A ABELHA Tetragonisca angustula / Barbara Soares Aires França. Campos Belos 2025.

33f. il.

Orientador: Prof. Dr. Althiéris de Souza Saraiva. Monografía (Especialista) - Instituto Federal Goiano, curso de 0630426 - Especialização em Bioinsumos - Campos Belos (Campus Campos Belos).

1. Abelhas nativas. 2. Biopesticidas. 3. Polinizadores. I. Título.

F815



# SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 168/2025 - UE-CB/GE-CB/CMPCBE/IFGOIANO

Regulamento de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) 3 CEBIO/IF Goiano

#### ANEXO V - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos Doze dias do mês de Setembro de dois mil e vinte e Vinte e Cinco, às 09h3min, reuniu-se (de forma híbrida) a Banca Examinadora composta por: Prof. Dr. Althiéris de Souza Saraiva | Orientador e Presidente da Banca Examinadora, IF Goiano – Campus Campos Belos; Ma. Adriana Bernardes de Jesus (membra interna) - Doutoranda em Agroquímica | IF Goiano – Campus Rio Verde; Ma. Aline Arantes de Oliveira (membra externa) - Doutoranda em Ciências Ambientais | UFG – Campus Samambaia, para examinar o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado ECOTOXICOLOGIA DE BIOINSUMOS: CONCENTRAÇÕES SEGURAS E NÃO SEGURAS DE BIOINSETICIDA A BASE DE *Metarhizium anisopliae* SOBRE A ABELHA *Tetragonisca angustula* de Bárbara Soares Aires França, estudante do curso de Pós-graduação *Lato Sensu* em Bioinsumos do IF Goiano – Campus Campos Belos, sob Matrícula nº 2024106304260002. A palavra foi concedida à estudante para a apresentação oral do TC, em seguida houve arguição da candidata pelos membros da Banca Examinadora. Após tal etapa, a Banca Examinadora decidiu pela APROVAÇÃO da estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata, que, após apresentação da versão corrigida do TC, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora.

(Assinado Eletronicamente)

Prof. Dr. Althiéris de Souza Saraiva | Orientador e Presidente da Banca Examinadora IF Goiano – Campus Campos Belos

(Assinado Eletronicamente)

Ma. Adriana Bernardes de Jesus (membra interna) –

Doutoranda em Agroquímica | IF Goiano – Campus Rio Verde

(Assinado Eletronicamente - Via GovBr)
Ma. Aline Arantes de Oliveira (membra externa) Doutoranda em Ciências Ambientais | UFG – Campus Samambaia

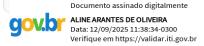
Documento assinado eletronicamente por:

- Althieris de Souza Saraiva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 12/09/2025 10:48:13.
- Adriana Bernardes de Jesus, 2024202320340001 Discente, em 12/09/2025 10:50:10.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 12/09/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/ e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 743714

Código de Autenticação: 1a17a230eb



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Campos Belos

Rodovia GO-118 Qd. 1-A Lt. 1 Caixa Postal, 1, Setor Novo Horizonte, CAMPOS BELOS / GO, CEP 73.840-000

(62) 3451-3386



## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

## PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

□ Tese (doutorado) □ Artigo científico   □ Dissertação (mestrado) □ Capítulo de livro   ☑ Monografia (especialização) □ Livro   □ TCC (graduação) □ Trabalho apresentado em evento   □ Produto técnico e educacional - Tipo: □ Matrícula:   Name completo do autor: ■ Matrícula:   Barbara Soares Aires França 2024106304260002   Título do trabalho: ■ ECOTOXICOLOGIA DE BIOINSUMOS: CONCENTRAÇÕES SEGURAS E NAO SEGURAS    RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO  Documento confidencial: ☑ Não □ Sim, justifique:  Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: □ / □ / □ / □  O documento está sujeito a registro de patente? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? □ Sim ☑ Não  O do
Nome completo do autor: Barbara Soares Aires França  Título do trabalho: ECOTOXICOLOGIA DE BIOINSUMOS: CONCENTRAÇÕES SEGURAS E NAO SEGURAS  RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO  Documento confidencial: Não Sim, justifique:  Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / / O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não
Documento confidencial: ☑ Não ☐ Sim, justifique:  Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: ☐ / ☐ / ☐  O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☑ Não  O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☑ Não
O documento está sujeito a registro de patente? Sim 🗹 Não O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim 🗹 Não
DECLADAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO EVOLUCIVA
DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA
O(a) referido(a) autor(a) declara:  • Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;  • Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder
ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;  • Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.  Campos Belos  1 / 10 / 2025
Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais    Ciento o do asserdo:   Documento assinado digitalmente

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por abençoar e guiar meus passos ao longo desta caminhada. Aos meus pais, por todo apoio, incentivo e motivação que me alavancaram durante toda a minha formação.

Ao meu orientador Althiéris de Souza Saraiva pela dedicação, vasto conhecimento, pontualidade e oportunidade oferecida.

Agradeço aos membros do grupo CAE – Conservação de Agroecossistemas e Ecotoxicologia, do IF Goiano – Campos Belos e Campus Rio Verde, pelo suporte e pela parceria constante. Também registro meu agradecimento ao fomento externo, viabilizado via grupo CAE, através dos projetos aprovados e financiados:

EcoSafe: Desvendando a Ecotoxicologia de Bioinsumos – aprovado na Chamada 04/2024 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG);

BeEcotox: Efeitos Comportamentais e Ecotoxicológicos de Bioinseticidas e Luz LED em Abelha sem Ferrão – Chamada PQ-2024, Processo nº 302271/2025-2;

MAIS AGRO MENOS TÓXICO: Por um Agro que Não Deixe Ninguém e Nenhum Lugar para Trás – aprovado na Chamada Pública FAPEG nº 12/2025;

BeePHOTOtox: Efeitos Combinados de Pesticidas Sintéticos e de Base Biológica, e Estímulos Luminosos sobre Abelhas sem Ferrão em Cultivo Protegido – Chamada Universal 2024, Processo nº 403111/2025-0.

Agradeço ainda ao Programa de Pós-Graduação em Bioinsumos e às instituições de apoio FAPEG, FUNAPE, IF GOIANO e CEBIO.









#### **BIOGRAFIA DO ALUNO**

Nasceu em Campos Belos - Goiás, formou-se em Agronomia pela Universidade de Brasília (UnB), e fez parte de projetos de Iniciação Científica na área de fitotecnia e sanidade de espécies frutíferas. Foi monitora da disciplina Manejo Integrado de Artrópodes Praga. Foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) durante o mestrado em Agronomia na Universidade Federal de Goiás. Atualmente, cursa doutorado em Agronomia na Universidade de Brasília e é bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Além disso, é membra do Grupo de Estudos em Vitivinicultura da UnB, onde participa de atividades de pesquisa e capacitação relacionados à produção de uvas na região do Planalto Central.

**RESUMO** 

FRANÇA, BARBARA SOARES AIRES. Instituto Federal Goiano – Campos Belos – GO,

setembro de 2025. Ecotoxicologia de bioinsumos: concentrações seguras e não seguras de

bioinseticida à base de Metarhizium anisopliae sobre a abelha Tetragonisca angustula.

Orientador: Althiéris de Souza Saraiva.

O trabalho investigou os efeitos de um biopesticida sobre abelhas sem ferrão, Tetragonisca

angustula. Este estudo é motivado pela necessidade de entender como o uso de bioinsumos

pode afetar o comportamento e a eficiência das abelhas, essenciais para a polinização de

diversas plantas, nativas e cultivadas, e, consequentemente, a produtividade agrícola e a

conservação de espécies nativas. A pesquisa abordou questões como os efeitos agudos e

subletais da exposição a biopesticida. A hipótese principal é que o bioinseticida à base de

Metarhizium anisopliae apresenta efeitos tóxicos à abelha sem ferrão T. angustula, sendo o

grau de toxicidade dependente da concentração e do tipo de exposição, impactando o

comportamento e a sobrevivência das abelhas. A metodologia envolveu ensaios em condições

controladas de laboratório, usando parâmetros de sobrevivência e comportamento. Os dados

gerados visam determinar a Concentração Letal para 10 e 50% das abelhas (CL<sub>10:50</sub>), a

Concentração de Efeito Não Observado (CENO) e a Concentração de Efeito Observado

(CEO), com vistas a gerar dados que contribuam com agências de proteção ambiental, bem

como a sustentabilidade agrícola e preservação de polinizadores nativos.

PALAVRAS-CHAVE: Abelhas nativas 1. Biopesticidas 2. Polinizadores 3.

**ABSTRACT** 

FRANÇA, BARBARA SOARES AIRES. Instituto Federal Goiano – Campus Campos Belos

- GO, September 2025. Ecotoxicology of bioinputs: safe and unsafe concentrations of the

bioinsecticide based on Metarhizium anisopliae on the bee Tetragonisca angustula.

Advisor: Althiéris de Souza Saraiva

The work investigated the effects of a biopesticide on stingless bees, *Tetragonisca angustula*.

This study is motivated by the need to understand how the use of bio-inputs can affect the

behavior and efficiency of bees, which are essential for the pollination of various native and

cultivated plants, and consequently, agricultural productivity and the conservation of native

species. The research addressed issues such as the acute and sublethal effects of exposure to

biopesticides. The main hypothesis is that the Metarhizium anisopliae-based bioinsecticide

has toxic effects on the stingless bee T. angustula, with the degree of toxicity being dependent

on concentration and type of exposure, impacting the behavior and mortality of bees. The

methodology involved trials under controlled laboratory conditions, using survival and

behavioral parameters. The generated data aim to determine the lethal concentration for 10

and 50% of bees (CL<sub>10:50</sub>), the No Observed Effect Concentration (NOEC), and the Lowest

Observed Effect Concentration (LOEC), with a view to generating data that contribute to

environmental protection agencies, as well as agricultural sustainability and the preservation

of native pollinators.

Keywords: Native bees 1. Biopesticides 2. Pollinators 3.

## LISTA DE TABELAS/ ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1-Efeito tópico de fungicida à base de *M. anisopliae* em abelhas sem ferrão *T. angustula*.

FIGURA 2- Efeito oral de fungicida à base de *M. anisopliae* em abelhas sem ferrão *T. angustula*.

FIGURA 3- Efeito da exposição oral ao produto comercial à base de *Metarhizium anisopliae* (Metarriz Plus WP Biocontrol) sobre a preferência alimentar de *Tetragonisca angustula* após 24 horas. O tratamento 0<sup>#</sup> corresponde ao controle, em que as abelhas receberam apenas xarope sem adição do produto com diluente.

#### LISTA DE SIGLAS

**EAT:** Efeito Agudo Tópico

**EAR:** Efeito Agudo Residual

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CL10: Concentração Letal para 10%

CL50: Concentração Letal para 50%

FAPEG: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás

i.a.: Ingrediente ativo

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

**CEO:** Concentração de Efeito Observado

mg a.i./L: Milligrams of Active Ingredient per Liter (em inglês)

CENO: Concentração de Efeito Não Observado

**g.p.c:** Grama de produto comercial

## **SUMÁRIO**

RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE TABELAS/ ILUSTRAÇÕES	7
LISTA DE SIGLAS	8
SUMÁRIO	9
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. OBJETIVOS	3
FOLHA DE ROSTO	4
3. CAPÍTULO I	5
4. CONCLUSÃO GERAL	20

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O uso de bioinsumos no manejo agrícola tem ganhado destaque como uma alternativa sustentável aos inseticidas químicos convencionais (Gindri et al. 2020). Entre eles, destacam-se os fungos entomopatogênicos, como *Metarhizium anisopliae*, amplamente utilizados no controle biológico de pragas devido à sua eficácia e ao menor impacto ambiental em comparação aos produtos sintéticos (Mawcha et al. 2024). Entretanto, ainda que sejam considerados mais seguros, esses agentes não estão isentos de riscos, sobretudo quando aplicados em altas concentrações ou sem avaliação adequada dos efeitos sobre organismos não-alvo (Chiew et al., 2022).

As abelhas representam um dos principais grupos de organismos potencialmente expostos a bioinseticidas, dada sua intensa interação com o ambiente e seu papel fundamental na polinização de culturas agrícolas e de espécies nativas (Rosa et al. 2020). Estima-se que grande parte da produção de alimentos dependa, em algum grau, da polinização realizada por abelhas (Potts et al., 2016). No Brasil, além da espécie exótica *Apis mellifera*, a fauna de abelhas sem ferrão, incluindo *Tetragonisca angustula* (conhecida como jataí), exerce papel relevante na manutenção da biodiversidade e na produtividade agrícola (Imperatriz-Fonseca; Nunes-Silva, 2010).

Estudos recentes têm demonstrado que fungos entomopatogênicos podem impactar negativamente tanto a sobrevivência quanto o comportamento das abelhas. Uma revisão sobre a segurança de bioinseticidas à base desses fungos destaca a necessidade de investigações mais específicas (Chiew et al., 2022). Ensaios com *M. anisopliae*, por exemplo, evidenciam que esses entomopatógenos podem provocar mortalidade em abelhas sociais, incluindo *T. angustula* (Leite et al., 2022). Entre os efeitos observados estão a redução da longevidade, alterações comportamentais e prejuízos em funções ecológicas essenciais. Assim, compreender a ecotoxicidade desses bioinseticidas em abelhas nativas mostra-se fundamental para assegurar seu uso seguro e prevenir impactos adversos sobre a polinização.

Nesse contexto, e considerando a crescente expansão dos bioinsumos na agricultura brasileira, torna-se necessário e urgente avaliar seus efeitos em espécies de abelhas sem ferrão, como *T. angustula*. A determinação de parâmetros ecotoxicológicos, como CL<sub>10</sub> e CL<sub>50</sub> (concentrações letais) e CENO e CEO (níveis sem e com efeito observado, respectivamente), fornece subsídios fundamentais para estabelecer limites de segurança ambiental. Esses dados são estratégicos tanto para a formulação de políticas públicas de regulação quanto para a

adoção de práticas agrícolas que conciliem produtividade e conservação de polinizadores.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do bioinseticida *Metarhizium anisopliae* sobre *Tetragonisca angustula*, determinando concentrações seguras e não seguras, por meio de ensaios de toxicidade aguda tópica e residual, bem como testes comportamentais de preferência alimentar.

#### 2. **OBJETIVOS**

Geral: Avaliar a toxicidade do bioinseticida *Metarhizium anisopliae* sobre *Tetragonisca angustula*, determinando concentrações seguras e não seguras.

#### Específicos:

Avaliar a ecotoxicidade de bioinseticida a base de *Metarhizium anisopliae* sobre a sobrevivência de *Tetragonisca angustula*, através de exposição tópica, de modo a determinar a  $CL_{10}$  e  $CL_{50}$ .

Avaliar a ecotoxicidade de bioinseticida a base de *Metarhizium anisopliae* sobre a sobrevivência de *Tetragonisca angustula*, através de exposição residual, de modo a determinar a  $CL_{10}$  e  $CL_{50}$ .

Avaliar a ecotoxicidade de bioinseticida à base de *Metarhizium anisopliae* sobre o Comportamento de *Tetragonisca angustula*, através da exposição tópica, de modo a determinar a CENO e a CEO.

Avaliar a ecotoxicidade de bioinseticida a base de *Metarhizium anisopliae* sobre o Comportamento de *Tetragonisca angustula*, através da exposição residual, de modo a determinar a CENO e a CEO.

#### FOLHA DE ROSTO

O presente estudo integra-se a macroprojetos financiados pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a saber:

EcoSafe: Desvendando a Ecotoxicologia de Bioinsumos – aprovado na Chamada 04/2024 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG);

BeEcotox: Efeitos Comportamentais e Ecotoxicológicos de Bioinseticidas e Luz LED em Abelha sem Ferrão – Chamada PQ-2024, Processo nº 302271/2025-2;

MAIS AGRO MENOS TÓXICO: Por um Agro que Não Deixe Ninguém e Nenhum Lugar para Trás – aprovado na Chamada Pública FAPEG nº 12/2025;

BeePHOTOtox: Efeitos Combinados de Pesticidas Sintéticos e de Base Biológica, e Estímulos Luminosos sobre Abelhas sem Ferrão em Cultivo Protegido – Chamada Universal 2024, Processo nº 403111/2025-0.

Este trabalho, portanto, compõe diferentes frentes acadêmicas e científicas. O Professor Orientador foi convidado a apresentar parte destes resultados na International Conference on Agriculture & Horticulture, cujo tema será Sustainable Agriculture and Smart Horticulture for a Resilient Future, a realizar-se em Berlim, Alemanha, em junho de 2026.

Além disso, os achados integrarão o Relatório de Projeto de Iniciação Científica de Diego Dalariva, com apresentação no Integra IF Goiano 2025, e também subsidiarão a Tese de Doutorado em Agroquímica de Adriana Bernardes.

#### 3. CAPÍTULO I

# Exposição a *Metarhizium anisopliae* compromete sobrevivência e alimentação da abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula*

RESUMO: A crescente adoção de bioinsumos na agricultura exige a avaliação de seus possíveis efeitos sobre organismos não-alvo, como polinizadores. Este trabalho avaliou a toxicidade aguda e subletal de um bioinseticida à base do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* sobre a abelha nativa sem ferrão *Tetragonisca angustula*. Ensaios laboratoriais foram conduzidos para determinar a concentração letal para 10% (CL<sub>10</sub>) e 50% (CL<sub>50</sub>) das abelhas, bem como a concentração de efeito não observado (CENO) e a menor concentração com efeito observado (CEO), considerando duas vias de exposição: tópica e oral (residual). Os resultados indicaram maior sensibilidade das abelhas à exposição tópica (CL<sub>50</sub> = 3,86 × 10<sup>10</sup> conídios/L) em comparação à oral (CL<sub>50</sub> = 1,49×10<sup>11</sup> conídios/L). Alterações comportamentais significativas na preferência alimentar foram detectadas a partir de 2,5×10<sup>8</sup> conídios/L (CEO), enquanto a CENO foi de 1,25×10<sup>8</sup> conídios/L. Embora os valores obtidos representem cenários de alta exposição, os dados reforçam a importância de considerar efeitos letais e subletais na definição de concentrações seguras para polinizadores. As informações geradas podem subsidiar órgãos ambientais, fortalecer a gestão sustentável de bioinsumos e contribuir para a conservação de abelhas nativas.

Palavras-chave: Biopesticida; Controle biológico; Fungos entomopatogênicos; Ecotoxicidade; Polinizadores.

ABSTRACT: The growing adoption of bio-inputs in agriculture requires the assessment of their potential effects on non-target organisms, such as pollinators. This study evaluated the acute and sublethal toxicity of a bioinsecticide based on the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on the native stingless bee *Tetragonisca angustula*. Laboratory tests were conducted to determine the lethal concentration for 10% (LC<sub>10</sub>) and 50% (LC<sub>50</sub>) of the bees, as well as the no observed effect concentration (NOEC) and the lowest observed effect concentration (LOEC), considering two routes of exposure: topical and oral (residual). The results indicated greater sensitivity of bees to topical exposure (LC<sub>50</sub> = 3,86 × 10<sup>10</sup> conidia/L) compared to oral exposure (LC<sub>50</sub> = 1,49×10<sup>11</sup> conidia/L). Significant behavioral changes in food preference were detected at 2,5×10<sup>8</sup> conidia/L (LOEC), while the NOEC was 1,25×10<sup>8</sup>

conidia/L. Although the values obtained represent high exposure scenarios, the data reinforce the importance of considering lethal and sublethal effects when defining safe concentrations for pollinators. The information generated can support environmental agencies, strengthen the sustainable management of bio-inputs, and contribute to the conservation of native bees.

*Key-words*: Biopesticide; Biological control; Entomopathogenic fungi; Ecotoxicity; Pollinators.

#### 3.1 Introdução

A crescente demanda por práticas agrícolas mais sustentáveis tem aumentado o incentivo e busca pelo uso de bioinsumos, entre eles bioinseticidas, que são uma alternativa com potencial para substituir o uso de defensivos químicos (Gindri et al. 2020; Bortoloti et al. 2022). O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, está entre os insumos biológicos mais utilizados para este fim, permitindo o controle eficaz de diversas pragas (Montalva et al., 2016; Baldivezo et al., 2020). Contudo, mesmo os insumos biológicos podem causar efeitos adversos em organismos não-alvo (Cappa et al. 2022). Nesse contexto, a ecotoxicologia, definida como a "ciência que estuda o efeito dos defensivos agrícolas e de outras substâncias sobre os ecossistemas", torna-se fundamental para avaliar os impactos do uso de bioinsumos no ambiente e auxiliar na determinação de concentrações seguras para diferentes espécies (Gasparotto, 2016).

As abelhas são essenciais para a manutenção da biodiversidade e da produtividade agrícola, sendo responsáveis pela polinização de diversas culturas (Shikuma e Alvarenga, 2021). Dentre as espécies de abelhas nativas, a *Tetragonisca angustula* (abelha jataí) tem destaque pela sua ampla distribuição geográfica e eficiência na polinização de plantas nativas e cultivadas (Silva e Da Paz, 2012). Contudo, a exposição desses seres a defensivos agrícolas, incluindo bioinseticidas, pode comprometer sua sobrevivência e seu papel ecológico (Lisi et al. 2025). Deste modo, é de suma importância entender os efeitos de bioinsumos sobre essas espécies, para garantir a segurança dos sistemas produtivos e a manutenção da biodiversidade.

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* atua como um biocontrolador eficaz de pragas agrícolas, infectando uma ampla gama de insetos hospedeiros (Aw e Hue, 2017). Sua infecção inicia com a adesão dos conídios à cutícula do inseto, seguida pela germinação e penetração das hifas, que se proliferam no interior do hospedeiro, levando à morte do inseto após alguns dias, esse efeito letal é potencializado pela produção de destruxinas, péptidos cíclicos com atividade inseticida (Aw e Hue, 2017; St.Leger e Wang,

2020).

A abelha *Tetragonisca angustula*, popularmente conhecida como jataí, é uma espécie de abelha sem ferrão amplamente distribuída nas Américas, desde o México até o norte da Argentina, sendo a sua presença é significativa em diversos ecossistemas, incluindo florestas tropicais e subtropicais, áreas urbanas e agroecossistemas (Nogueira-Neto, 1997). Essas abelhas desempenham um papel crucial na polinização de uma variedade de plantas nativas e cultivadas, contribuindo para a manutenção da biodiversidade e a produtividade agrícola, sua adaptabilidade a diferentes ambientes e sua importância ecológica tornam-nas vitais para os agroecossistemas (Nogueira-Neto, 1997; Associação Brasileira De Estudos Das Abelhas, 2015).

Dada a ampla distribuição geográfica e a importância ecológica da *Tetragonisca* angustula, é fundamental avaliar os potenciais impactos do *Metarhizium anisopliae* sobre essa espécie. Embora *M. anisopliae* seja utilizado como bioinseticida em diversas culturas, a interação desse fungo com abelhas nativas, como a *T. angustula*, ainda é pouco compreendida, requerendo investigações aprofundadas para garantir práticas agrícolas sustentáveis que preservem a biodiversidade e a funcionalidade dos agroecossistemas (Toledo-Hernández et al. 2016; Araújo, 2019). Nesse contexto, tornam-se estudos e ensaios científicos que determinem concentrações seguras e não seguras do bioinseticida, contribuindo para o uso seguro dos bioinsumos e para a conservação de polinizadores e ecossistemas.

#### 3.2 Material e Métodos

3.2.1. Procedimento de coleta em campo de *Tetragonisca angustula* para ensaios com o bioinseticida *Metarhizium anisopliae* 

As abelhas *Tetragonisca angustula* utilizadas nos ensaios foram coletadas em seu ambiente natural na Escola-Fazenda do IF Goiano - Campus Campos Belos (Latitude -13,0753251, Longitude -46,7258929). A coleta foi realizada de modo a garantir que os indivíduos apresentassem comportamentos, alimentação e condições fisiológicas típicas de populações livres. Optou-se por indivíduos provenientes de colônias naturais em vez de caixas de criação, para preservar a variabilidade biológica e imunológica natural, proporcionando resultados mais realistas sobre a suscetibilidade ao bioinseticida *Metarhizium anisopliae*. Os indivíduos de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*) foram coletados na entrada das colônias, entre 10h30min e 15h30min, período correspondente à maior atividade forrageadora da espécie. Foram coletadas 10 abelhas por gaiola, de uma única colônia (os tratamentos e

número de gaiolas por tratamento são descritos abaixo). As gaiolas contendo abelhas foram transportadas em bandejas de plástico, cobertas com saco de lixo preto, para reduzir o estresse.

#### 3.2.2. Ensaios para determinação da CL<sub>10</sub> e CL<sub>50</sub> sobre *T. angustula*

Os ensaios com abelhas nativas foram conduzidos a partir de adaptações dos métodos descritos por Jacob et al. (2019), Oliveira et al. (2023b) e De Jesus (2024). Os organismos foram mantidos em ambiente controlado, com temperatura variando entre 25 e 27 °C, regulada por ar-condicionado, de modo a garantir condições adequadas aos organismos-teste, e condução experimental. Durante todo o período experimental, os organismos permaneceram em ambiente escuro para reduzir o estresse.

O monitoramento dos ensaios por 192 horas foi estabelecido para abranger integralmente o período de manifestação da patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae*. O ciclo de infecção envolve adesão e germinação dos conídios sobre a cutícula do hospedeiro, penetração tecidual, proliferação endógena e produção de destruxinas, culminando na morte do inseto (St. Leger e Wang, 2020). Essa dinâmica apresenta latência temporal significativa, de modo que efeitos letais e subletais podem ocorrer de forma gradual, refletindo o que potencialmente ocorreria em exposições naturais prolongadas em campo (Beys-da-Silva et al., 2014; St. Leger e Wang, 2020; Omuse et al. 2021).

Além disso, a duração de 192 horas permite avaliar de maneira abrangente impactos sobre sobrevivência, comportamento alimentar e outras funções subletais das abelhas operárias forrageiras de *Tetragonisca angustula*, fornecendo dados ecologicamente relevantes que simulam cenários de exposição ambiental realistas, nos quais as abelhas podem entrar em contato com o bioinseticida tanto por contato direto com superfícies contaminadas quanto por ingestão de néctar e pólen contaminados (CAPPA; BARACCHI, 2024). Dessa forma, os ensaios reproduzem as condições do ambiente natural, garantindo que a avaliação da toxicidade aguda tópica (EAT) e residual (EAR) reflita o risco efetivo para as populações de polinizadores nativos.

Para a avaliação da toxicidade aguda tópica (EAT) e da toxicidade aguda residual (EAR), utilizaram-se gaiolas de Polietileno Tereftalato – PET, medindo 73 mm de diâmetro por 79 mm de altura, revestidas internamente com papel filtro comercial. Cada gaiola continha alimentadores confeccionados a partir de tubos de microcentrífuga transparentes de 2 mL, forrados com algodão para facilitar o acesso ao alimento e evitar afogamento. As

exposições foram realizadas com 10 abelhas operárias forrageiras de *Tetragonisca angustula* por réplica, totalizando 30 organismos em cada tipo de ensaio.

No ensaio de EAT, as abelhas foram expostas a uma névoa contaminada, utilizando-se um volume de 350 μL, representando concentrações compatíveis com aquelas encontradas no ambiente natural (adaptado de Oliveira et al. 2023a). A exposição durou 1 minuto, e os efeitos foram monitorados ao longo de 192 horas. Já no ensaio de EAR, as abelhas permaneceram em jejum por 30 minutos antes de receberem um xarope (água e açúcar, na proporção 1:1) contaminado. Após esse tempo o xarope contaminado foi disponibilizado para as abelhas e o monitoramento dos efeitos também aconteceu por 192 horas.

As concentrações de *Metarhizium anisopliae* avaliadas foram: 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 mg de i.a./L, obtidas através do produto comercial METARRIZ PLUS WP BIOCONTROL, Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento − MAPA sob nº 13515 cuja composição contém *Metarhizium anisopliae*, isolado IBCB 425 (2,5x10^10 de conídios viáveis do fungo/g p.c.) 400 g/Kg (4% m/m) e 600 g/Kg (96% m/m) de outros ingredientes, além de um tratamento controle contendo apenas o diluente (solução a 1% de Polissorbato 80, pureza ≥ 98%). Esses valores foram definidos com base em ensaios ecotoxicológicos preliminares e em informações da literatura sobre níveis ambientais da espécie. Para ambos os testes, a solução-estoque de *M. anisopliae* foi preparada em água destilada, sendo as concentrações de teste obtidas a partir dessa solução. As diluições foram preparadas com até 24 horas de antecedência e armazenadas a 4 °C, em embalagens de PET revestidas com papel alumínio. Para cada uma das concentrações avaliadas, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 mg de i.a./L, havia 1,25 x 10<sup>8</sup>, 2,50 x 10<sup>8</sup>, 5,0 x 10<sup>8</sup>, 1,0 x 10<sup>9</sup>, 2,0 x 10<sup>9</sup>, 4,0 x 10<sup>9</sup>, 8,0 x 10<sup>9</sup>, 1,6 x 10<sup>10</sup> conídios viáveis por litro.

#### 3.2.3. Teste de preferência alimentar

Os testes de preferência alimentar para *Tetragonisca angustula* foram conduzidos a partir de adaptações da metodologia descrita por Silva et al. (2016). Inicialmente, 10 abelhas foram coletadas na entrada do ninho e acondicionadas em gaiolas de PET com capacidade de 250 mL (73 mm de diâmetro × 79 mm de altura, com tampa), revestidas internamente com papel filtro qualitativo. Antes do início do ensaio, permaneceram em jejum por 30 minutos, a fim de padronizar os hábitos alimentares. Todas as abelhas utilizadas pertenciam à mesma colônia, garantindo maior consistência no comportamento alimentar.

Após a coleta, os insetos foram transferidos para o laboratório e expostos à

temperatura de 25 °C, controlada por ar-condicionado, por um período mínimo de 15 minutos para ambientação. Esse tempo de adaptação foi necessário para facilitar o manuseio durante a substituição dos alimentos, reduzindo o risco de perda de indivíduos no processo.

O procedimento experimental consistiu na substituição do alimento não contaminado por soluções contaminadas após o período inicial de 30 minutos. Os alimentos foram preparados em tubos de microcentrífuga transparentes de 2 mL, perfurados com agulha entomológica e tampados para evitar o escoamento do xarope, sendo esses tubos inseridos na tampa das gaiolas experimentais. As concentrações testadas incluíram oito variações do composto, misturadas em proporção 1:1 com xarope, além de um tratamento controle, conforme descrito no tópico anterior.

Durante todo o período experimental, a temperatura ambiente foi mantida entre 25 e 27 °C, com ajustes no ar-condicionado sempre que necessário, e as abelhas permaneceram em ambiente escuro. A duração total do teste foi de 24 horas. Para a avaliação de efeitos subletais, como alterações na preferência alimentar de *T. angustula*, optou-se por monitorar os indivíduos por 24 horas, em contraste com os 192 horas utilizados para os efeitos letais. Essa abordagem é adequada porque mudanças comportamentais tendem a se manifestar de forma mais imediata após a exposição ao bioinseticida *M. anisopliae*, refletindo respostas rápidas do sistema nervoso e metabólico das abelhas (Cham et al 2017). Além disso, o monitoramento mais curto permite distinguir efeitos subletais agudos de alterações fisiológicas ou comportamentais que podem ocorrer antes do desenvolvimento do quadro letal, fornecendo informações relevantes para a avaliação do impacto ecológico do fungo em cenários ambientais realistas (Cham et al 2017).

Para a avaliação da preferência alimentar, os tubos foram pesados antes e após a exposição. O volume final remanescente foi subtraído do volume inicial, possibilitando a determinação do consumo total pelas 10 abelhas. Em seguida, esse valor foi dividido pelo número de indivíduos da amostra, resultando na média de consumo por abelha.

#### 3.2.4. Análise estatística

A concentração letal para 10% ( $CL_{10}$ ) e para 50% ( $CL_{50}$ ) de *Metarhizium anisopliae* em *T. angustula* foram estimadas por meio de análise de Probit, utilizando o software estatístico Minitab 21<sup>®</sup> (Minitab Inc., State College, PA, USA).

Para os ensaios de preferência alimentar com *T. angustula*, a análise estatística foi realizada utilizando ANOVA para comparar as médias das diferentes concentrações. A

ANOVA foi precedida pelo teste de homogeneidade de variância de Brown-Forsythe e pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk para garantir a adequação dos dados. As Concentrações de Efeito Não Observado (CENO) e as Concentrações de Efeito Observado (CEO) foram determinadas através de testes de múltiplas comparações de Dunnett. As análises estatísticas ANOVA foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism versão 10.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)

#### 3.3 Resultados e Discussão

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda demonstraram diferenças significativas na suscetibilidade de *T. angustula* às diferentes concentrações do bioinseticida *M. anisopliae*, dependendo da via de exposição. Observou-se que a exposição tópica resultou em efeitos mais pronunciados, com CL<sub>10</sub> = 4,72 x 10<sup>9</sup> conídios/L e CL<sub>50</sub> = 3,85 x 10<sup>10</sup> conídios/L, em comparação à via oral, para a qual os valores foram CL<sub>10</sub> = 8,03 x 10<sup>9</sup> conídios/L e CL<sub>50</sub> = 1,49 x 10<sup>11</sup> conídios/L. As figuras 1 e 2 ilustram a probabilidade de mortalidade das abelhas submetidas aos tratamentos por contato e ingestão, respectivamente. Esse padrão corrobora a hipótese de que a penetração cuticular constitui uma via mais eficiente de infecção, uma vez que a adesão e germinação dos conídios sobre o tegumento do hospedeiro proporcionam vantagem de colonização em relação à ingestão, conforme relatado por Tiago et al. (2014) e St.Leger e Wang (2020).

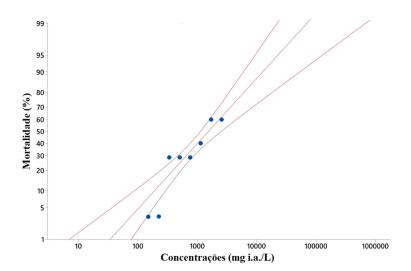
Esse mecanismo é explicado pelo fato de que *Metarhizium* produz estruturas especializadas, como apressórios e pegs de penetração, associados à secreção de enzimas hidrolíticas — proteases, lipases e quitinases — que degradam a cutícula e facilitam a invasão dos tecidos do hospedeiro (Saciloto-De-Oliveira et al., 2025).

Estudos prévios reforçam essa interpretação. Omuse et al. (2022) observaram que determinados isolados de *M. anisopliae* (ICIPE 7, ICIPE 20 e ICIPE 69) reduziram a sobrevivência de *Apis mellifera* em até 17,4% via contato, enquanto *Meliponula ferruginea* não apresentou diminuição significativa. De maneira consistente, Toledo-Hernández et al. (2016) relataram mortalidade elevada de *T. angustula* exposta ao mesmo fungo, evidenciando que a suscetibilidade varia entre espécies de meliponíneos e depende do isolado utilizado.

Na avaliação quantitativa, a concentração letal capaz de causar mortalidade em 10% das abelhas ( $CL_{10}$ ) via exposição tópica foi estimada em 4,72 x  $10^9$  conídios/L, com erro padrão de 1,32 ×  $10^9$  e intervalo de confiança de 2,17 ×  $10^9$  a 7,27 ×  $10^9$  conídios/L. A  $CL_{50}$ ,

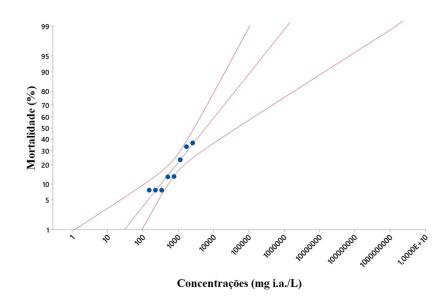
por sua vez, atingiu  $3,86 \times 10^{10}$  conídios/L, com erro padrão de  $7,304 \times 10^9$  e intervalo de confiança de  $2,81 \times 10^{10}$  a  $6,30 \times 10^{10}$  conídios/L, evidenciando a sensibilidade diferencial das abelhas em função da via de exposição e a importância de considerar tanto efeitos letais quanto subletais na avaliação do risco ecológico do bioinseticida.

**Figura 1.** Efeito tópico de fungicida à base de *M. anisopliae* em abelhas sem ferrão *T. angustula*.



A mortalidade observada no teste agudo oral (Figura 2) foi analisada por meio de regressão probit, considerando-se uma distribuição lognormal para a variável resposta (percentual de mortalidade). Os parâmetros do modelo foram estimados pelo método de máxima verossimilhança, e a significância dos coeficientes foi verificada pelo teste Z. A qualidade do ajuste do modelo foi avaliada por meio dos testes de Pearson e Deviance. A partir desse procedimento, estimaram-se as concentrações letais correspondentes a diferentes percentis (CL<sub>10</sub> e CL<sub>50</sub>), acompanhadas de seus respectivos erros padrão e intervalos de confiança a 95%, adotando-se nível de significância de 5%.

**Figura 2**. Efeito oral de fungicida à base de *M. anisopliae* em abelhas sem ferrão *T. angustula*.



Os resultados indicaram que a concentração letal para 10% das abelhas (CL<sub>10</sub>) foi de  $8,03 \times 10^9$  conídios/L, com erro padrão de  $2,59 \times 10^9$  e intervalo de confiança entre  $2,73 \times 10^9$  e  $1,31 \times 10^{10}$  conídios/L. Já a concentração letal para 50% das abelhas (CL<sub>50</sub>) foi estimada em  $1,49 \times 10^{11}$  conídios/L, apresentando erro padrão de  $8,24 \times 10^{10}$  e intervalo de confiança entre  $7,03 \times 10^{10}$  e  $1,15 \times 10^{12}$  conídios/L.

Além dos achados deste estudo, Leite et al. (2022) avaliaram os efeitos diretos de três dos bioinseticidas fúngicos mais amplamente utilizados, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Cordyceps fumosorosea*, sobre a sobrevivência de quatro espécies de abelhas sociais, incluindo duas nativas de regiões tropicais (*Scaptotrigona depilis* e *Tetragonisca angustula*) e duas de regiões temperadas (*Apis mellifera* e *Bombus terrestris*). Os experimentos foram conduzidos com cinco concentrações representativas das doses recomendadas para aplicação em campo, por meio de exposição tópica e oral. Os autores observaram variações significativas na mortalidade em função da espécie, da via de exposição e do fungo utilizado. Notavelmente, *T. angustula* foi a única espécie que apresentou sensibilidade significativa à exposição tópica ao *M. anisopliae*, enquanto todas as espécies

foram afetadas pela via oral. Esses resultados reforçam a importância de considerar a via de exposição e a biologia específica de cada polinizador ao avaliar os riscos ecotoxicológicos de bioinseticidas, especialmente em contextos tropicais onde meliponíneos desempenham papel central na polinização.

Comparativamente, Araújo (2019) identificou que a sensibilidade a bioinseticidas varia entre espécies de meliponíneos, ressaltando que protocolos de avaliação de risco devem ser específicos a cada espécie para evitar prejuízos à polinização (Araújo, 2019). Essa variação também é discutida por Jacob (2019), que destaca diferenças fisiológicas e comportamentais como determinantes da susceptibilidade aos insumos biológicos (Jacob, 2019).

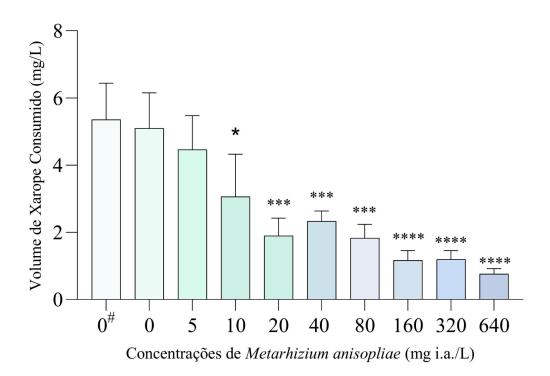
Os resultados da análise de preferência alimentar para o *M. anisopliae* variaram conforme a concentração testada (Figura 3). A concentração sem efeito observado (CENO) foi determinada em 5 mg/L (1,25×10<sup>8</sup> conídios/L), correspondente à maior dose que não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p = 0,8197). De outro modo, a menor concentração com efeito observado (CEO) foi de 10 mg/L (2,5×10<sup>8</sup> conídios/L), valor que mostrou diferença significativa em relação ao controle (p = 0,0139). Já as demais concentrações testadas resultaram em diferenças altamente significativas (p < 0,001). Esses efeitos subletais em baixas doses são particularmente relevantes, pois podem comprometer o comportamento de forrageamento. De fato, Carlesso et al. (2020) mostraram que a exposição a bioinseticidas pode interferir na responsividade ao açúcar e na capacidade de aprendizado de *Apis mellifera*, comprometendo diretamente o forrageamento. Alterações desse tipo, embora não resultem em mortalidade imediata, têm potencial para reduzir a eficiência polinizadora e afetar a manutenção das colônias.

Embora condições de laboratório indiquem risco potencial, o impacto real no campo pode ser atenuado por fatores como temperatura interna da colmeia, comportamento de limpeza e dispersão dos conídios (Elevagro, 2022). No entanto, a detecção de efeitos subletais em concentrações baixas alerta para a necessidade de precaução em aplicações próximas a áreas de forrageamento, especialmente em períodos críticos de coleta de recursos.

Do ponto de vista ecológico, é importante considerar que os ensaios laboratoriais representam um cenário de alta exposição. Em condições de campo, fatores como temperatura estável da colmeia, comportamento de higiene e diluição ambiental podem reduzir o risco (Tiago et al., 2014). No entanto, a detecção de impactos subletais em baixas concentrações levanta preocupações sobre efeitos cumulativos em áreas onde o bioinseticida é aplicado com

frequência.

**Figura 3.** Efeito da exposição oral ao produto comercial à base de *Metarhizium anisopliae* (Metarriz Plus WP Biocontrol) sobre a preferência alimentar de *Tetragonisca angustula* após 24 horas. O tratamento  $0^{\#}$  corresponde ao controle, em que as abelhas receberam apenas xarope sem adição do produto com diluente. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média. Asteriscos indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle pelo teste de Dunnett (p < 0.05 = \*; p < 0.001 = \*\*\*; p < 0.0001 = \*\*\*\*).



Portanto, ainda que o *M. anisopliae* seja reconhecido como uma alternativa sustentável para o manejo de pragas (St.Leger e Wang, 2020), seu uso deve ser precedido por avaliações ecotoxicológicas, considerando não apenas a mortalidade, mas também mudanças comportamentais que afetam a eficiência polinizadora e a manutenção das populações de abelhas nativas.

#### 3.4 Conclusões

Os dados obtidos evidenciam que Tetragonisca angustula apresenta maior

suscetibilidade à exposição tópica ao bioinseticida *Metarhizium anisopliae*, com  $CL_{10} = 4,72\times10^9$  conídios/L e  $CL_{50} = 3,85\times10^{10}$  conídios/L, enquanto na via oral os valores foram significativamente maiores ( $CL_{10} = 8,03\times10^9$  conídios/L;  $CL_{50} = 1,49\times10^{11}$  conídios/L), indicando que a penetração cuticular é a via mais eficiente para infecção e letalidade.

Em relação aos efeitos subletais, alterações na preferência alimentar foram observadas a partir de 10 mg/L (2,5×10<sup>8</sup> conídios/L) (CEO), com CENO de 5 mg/L (1,25×10<sup>8</sup> conídios/L), demonstrando que concentrações muito menores do que as letais já podem comprometer comportamentos essenciais para a sobrevivência e eficiência de forrageamento das abelhas. O monitoramento diferenciado, com 192 h para mortalidade e 24 h para efeitos subletais, permitiu capturar respostas imediatas e tardias, refletindo a dinâmica temporal do modo de ação do fungo.

Esses dados fornecem informações sobre risco ecotoxicológico, indicando que concentrações que podem afetar tanto a sobrevivência quanto o comportamento alimentar de polinizadores nativos, sendo fundamentais para orientar a definição de limites seguros de uso de bioinseticidas e estratégias de manejo sustentável nos agroecossistemas.

#### 3.5 Referências

ARAÚJO, W. L. **Toxicidade de inseticidas sobre abelhas sem ferrão**. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) — Universidade Federal da Paraíba, Areia. Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/16611/1/WLA05122019%20-%20TA21 3.pdf. Acesso em: 25 ago. 2025.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDOS DAS ABELHAS (A.B.E.L.H.A.S.). **Meliponicultura** no Brasil. Brasil, 2015. Disponível em: https://abelha.org.br/meliponicultura-no-brasil/. Acesso em: 15 ago. 2021.

AW, K. M. S.; HUE, S. M. Mode of infection of *Metarhizium* spp. fungus and their potential as biological control agents. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 2, p. 30, 2017.

BALDIVIEZO, L. V. et al. Isolation of *Beauveria bassiana* from the chagas disease vector *Triatoma infestans* in the Gran Chaco region of Argentina: assessment of gene expression during host-pathogen interaction. **Journal of Fungi,** v. 6, p. 219, 2020. DOI: 10.3390/jof6040219.

BEYS-DA-SILVA, W. O. et al. Secretoma do agente de biocontrole *Metarhizium anisopliae* induzido pela cutícula da praga do algodão *Dysdercus peruvianus* revela novos insights sobre a infecção. **Journal of Proteome Research**, Washington, DC, v. 13, n. 5, p. 1–15, 2014. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/pr401204y. Acesso em: 1 set. 2025.

BORTOLOTI, G.; SAMPAIO, R. M. Demandas tecnológicas: os bioinsumos para controle biológico no Brasil. Cadernos de Ciência & Tecnologia, [S. 1.], v. 39, n. 1, p. e26927, 2022.

- DOI: 10.35977/0104-1096.cct2022.v39.26927. Disponível em: https://apct.sede.embrapa.br/cct/article/view/26927. Acesso em: 22 set. 2025.
- CAPPA, F.; BARACCHI, D. Bioinsecticides on honey bees: exposure, sublethal effects, and risk assessment paradigms. **Current Opinion in Environmental Science & Health,** v. 41, p. 100569, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.coesh.2024.100569.
- CAPPA, F.; BARACCHI, D.; CERVO, R. Biopesticides and insect pollinators: detrimental effects, outdated guidelines, and future directions. **Science of the Total Environment,** v. 837, p. 155714, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.coesh.2024.100569.
- CARLESSO, D. et al. Exposure to a biopesticide interferes with sucrose responsiveness and learning in honey bees. **Scientific Reports**, v. 10, art. 19929, 2020. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41598-020-76852-2. Acesso em: 31 ago. 2025.
- CHAM, K. O. et al. **Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas.** Brasília: Ibama/Diqua, 2017. 105 p.
- CHIEW, B. F.-J. et al. Safeness and effectiveness of entomopathogenic fungi for use as bioinsecticide: a mini review. **Journal of Biological Control**, v. 36, n. 1, 2022. Disponível em:
- https://www.researchgate.net/publication/366273283\_Safeness\_and\_effectiveness\_of\_entomo pathogenic\_fungi\_for\_use\_as\_bioinsecticide\_A\_mini\_review.
- DE JESUS, A. B. Impacto do Glifosato em Abelhas Nativas *Tetragonisca angustula*: Ecotoxicidade e Consequências de Exposição Tópica e Residual para Polinizadores. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. Orientador: Dr. Althiéris de Souza Saraiva. Coorientadora: Dra. Suzana Maria Loures de Oliveira Marcionílio. Disponível em: https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/4821.
- ELEVAGRO. *Metarhizium anisopliae* no controle biológico de pragas. 2022. Disponível em: https://elevagro.com/metarhizium-anisopliae-no-controle-biologico-de-pragas/. Acesso em: 25 ago. 2025.
- GASPAROTTO, L. et al. **Glossário de fitopatologia**. 3. ed. rev. e atual. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 490 p.
- GINDRI, D. M.; MOREIRA, P. A. B.; VERISSIMO, M. A. A. (Orgs.). Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável. 1. ed. Florianópolis: CIDASC, 2020. 486 p. Disponível em: https://nuppre.paginas.ufsc.br/files/2021/02/Livro-Sanidade-Vegetal-Vers%C3%A3o-Digital-1\_compressed.pdf.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica,** v. 10, n. 4, p. 59–62, out. 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000400008. Acesso em: 25 ago. 2025.
- JACOB, C. R. O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on

- *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). Chemosphere, v. 224, p. 65–70, 1 jun. 2019.
- LEITE, M. O. G. et al. Laboratory risk assessment of three entomopathogenic fungi used for pest control toward social bee pollinators. **Microorganisms**, v. 10, n. 9, p. 1800, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms10091800. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9501116/.
- LISI, F. et al. Non-target effects of bioinsecticides on natural enemies of arthropod pests. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 45, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.coesh.2025.100624.
- MONTALVA, C. et al. Conidiobolus macrosporus (Entomophthorales), a mosquito pathogen in Central Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 139, p. 102–108, 2016. DOI: 10.1016/j.jip.2016.08.003.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. 445 p. ISBN 85-86525-01-4.
- OECD. Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures. Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, n. 23, 2000.
- OLIVEIRA, A. A. et al. Toxicity of imidacloprid for stingless bees of the genus *Tetragonisca* (Meliponini). **Apidologie,** v. 54, p. 62, 2023a. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13592-023-01043-7.
- OLIVEIRA, A. A. de et al. Captura e manejo de abelhas nativas sem ferrão: um guia técnico de captura e manutenção de colônias para uso em ensaios laboratoriais e educacionais. **Entomology Beginners**, [S. l.], v. 4, p. e061, 2023b. DOI: 10.12741/2675-9276.v4.e061.
- OMUSE, E. R. et al. Suscetibilidade da abelha melífera ocidental Apis mellifera e da abelha sem ferrão africana *Meliponula ferruginea* (Hymenoptera: Apidae) aos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 1, p. 46-55, 9 fev. 2022. DOI: https://doi.org/10.1093/jee/toab211.
- POTTS, S. G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**, v. 540, p. 220–229, 2016. DOI: https://doi.org/10.1038/nature20588.
- ROSA, J. M. da et al. Insetos polinizadores: a base para manutenção da biodiversidade e crescimento econômico. In: GINDRI, D. M.; MOREIRA, P. A. B.; VERISSIMO, M. A. A. (Orgs.). Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável. 1. ed. Florianópolis: CIDASC, 2020. p. 325–381.
- SACILOTO-DE-OLIVEIRA, L. R. et al. Proteomics in *Metarhizium* parasitism of arthropods. **Fungal Biology Reviews,** v. 51, p. 100409, 2024. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fbr.2024.100409.
- SHIKUMA, C. K.; ALVARENGA, I. R. A importância das abelhas para o mundo. Anais do

Fórum de Iniciação Científica do UNIFUNEC, v. 12, n. 12, 2021.

SILVA, B. S. et al. Efeitos do imidacloprido sobre o comportamento das abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae). **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente,** v. 3, 2016.

SILVA, W. P.; DA PAZ, J. R. L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza Online,** v. 10, n. 3, p. 146–152, 2012.

ST. LEGER, R. J.; WANG, J. B. *Metarhizium:* jack of all trades, master of many. **Open Biology**, v. 10, n. 12, p. 200307, 2020.

TIAGO, P. V. et al. Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 44, n. 4, p. 645–651, 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cr/a/wDR5kxk9zzcCHGhDy3RS4vP/?format=html. Acesso em: 25 ago. 2025.

TOLEDO-HERNÁNDEZ, R. A. et al. Effect of three entomopathogenic fungi on three species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae) under laboratory conditions. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 3, p. 1015–1019, 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27151469/. Acesso em: 25 ago. 2025.

#### 4. CONCLUSÃO GERAL

Os resultados deste estudo demonstram que o bioinseticida *Metarhizium anisopliae* apresenta toxicidade diferencial em *Tetragonisca angustula*, sendo mais letal a via de exposição tópica em contraste com a via oral, enquanto efeitos subletais sobre a preferência alimentar manifestam-se rapidamente a partir de 10 mg/L, justificando monitoramento em períodos mais curtos (24 h). Esses achados destacam a importância de considerar tanto efeitos letais quanto subletais na avaliação ecotoxicológica de bioinseticidas, fornecendo dados essenciais sobre o risco real para polinizadores nativos em cenários ambientais naturais.

O estudo é altamente pertinente para a ciência da ecotoxicologia e conservação, pois oferece informações sobre efeitos de bioinseticidas em organismos não-alvo, contribuindo para o entendimento dos impactos sobre polinizadores e serviços ecossistêmicos essenciais. Além disso, insere-se no contexto do Grupo CAE — Conservação de Agroecossistemas e Ecotoxicologia, fornecendo subsídios teóricos e práticos para a definição de concentrações seguras, uso responsável de bioinseticidas e manejo sustentável dos agroecossistemas — sendo o primeiro estudo de Ecotoxicologia de Bioinsumos no âmbito do curso de Pós-graduação Lato Sensu em Bioinsumos.

Apesar da relevância dos dados obtidos, o estudo apresenta limitações, como a realização em condições laboratoriais controladas, número limitado de indivíduos testados e restrição a determinados isolados de *M. anisopliae*. Para avançar na compreensão dos efeitos de bioinseticidas sobre polinizadores, pesquisas futuras devem incluir estudos de campo, avaliação de efeitos crônicos, impactos sobre colônias inteiras e possíveis interações com outros agentes agroecológicos, permitindo extrapolar os resultados para cenários ambientais mais complexos e realistas.

#### REFERÊNCIAS

- CHIEW, B. F.-J.; ONG, H. G.; WONG, R. R.; WONG, K. K. Safeness and effectiveness of entomopathogenic fungi for use as bioinsecticide: A mini review. **Journal of Biological Control**, v. 36, n. 1, 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/366273283\_Safeness\_and\_effectiveness\_of\_entomo pathogenic fungi for use as bioinsecticide A mini review
- GINDRI, D. M.; MOREIRA, P. A. B.; VERISSIMO, M. A. A. (Orgs.). Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável. 1. ed. Florianópolis: CIDASC, 2020. 486 p. Disponível em: https://nuppre.paginas.ufsc.br/files/2021/02/Livro-Sanidade-Vegetal-Vers%C3%A3o-Digital-1\_compressed.pdf
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; NUNES-SILVA, P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 59–62, out. 2010. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000400008">https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000400008</a>. Acesso em: 25 ago. 2025.
- LEITE, M. O. G. et al. Laboratory Risk Assessment of Three Entomopathogenic Fungi Used for Pest Control toward Social Bee Pollinators. **Microorganisms**, v. 10, n. 9, p. 1800, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms10091800. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9501116/
- MAWCHA, K. T.; MALINGA, L.; MUIR, D.; GE, J.; NDOLO, D. Recent advances in biopesticide research and development with a focus on microbials. *F1000Research*, v. 13, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.12688/f1000research.154392.3
- POTTS, S. G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**, v. 540, p. 220–229, 2016. DOI: <a href="https://doi.org/10.1038/nature20588">https://doi.org/10.1038/nature20588</a>
- ROSA, J. M. da; BRILINGER, D.; ARIOLI, C.J.; WITTER, S.; EFROM, C. F. S.; AGOSTINETTO, L. . Insetos polinizadores: a base para manutenção da biodiversidade e crescimento econômico. In: GINDRI, Diego Medeiros; MOREIRA, Patrícia Almeida Barroso; VERISSIMO, Mario Alvaro Aloisio (Orgs.). Sanidade vegetal: uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável. 1. ed. Florianópolis: CIDASC, 2020. p. 325–381.