



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**VICTOR MAGALHÃES MONTEIRO**

**TOXICIDADE DE DUAS FORMULAÇÕES COMERCIAIS DE NEONICOTINOIDES  
PARA AS ABELHAS NATIVAS SEM FERRÃO *Trigona aff fuscipennis* Friese 1900 e  
*Scaptotrigona aff depilis* Moure 1942 (Hymenoptera: Apidae)**

**FORTALEZA**

**2021**

VICTOR MAGALHÃES MONTEIRO

TOXICIDADE DE DUAS FORMULAÇÕES COMERCIAIS DE NEONICOTINOIDES  
PARA AS ABELHAS NATIVAS SEM FERRÃO *Trigona aff fuscipennis* Friese 1900 e  
*Scaptotrigona aff depilis* Moure 1942 (Hymenoptera: Apidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção da titulação de doutor em Zootecnia. Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M78t Monteiro, Victor Magalhães.  
Toxicidade de duas formulações comerciais de neonicotinoides para as abelhas nativas sem ferrão *Trigona aff fuscipennis* Friese 1900 e *Scaptotrigona aff depilis* Moure 1942 (Hymenoptera: Apidae) / Victor Magalhães Monteiro. – 2021.  
60 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas.
1. Meliponíneos. 2. Pesticida. 3. Avaliação de risco. 4. Seletividade. 5. Teste de toxicidade. I. Título.  
CDD 636.08
-

VICTOR MAGALHÃES MONTEIRO

TOXICIDADE DE DUAS FORMULAÇÕES COMERCIAIS DE NEONICOTINOIDES  
PARA AS ABELHAS NATIVAS SEM FERRÃO *Trigona aff fuscipennis* Friese 1900 e  
*Scaptotrigona aff depilis* Moure 1942 (Hymenoptera: Apidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Zootecnia. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovada em: 16/12/2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Ervino Bleicher  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profª. Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)

---

Prof. Dr. Marcelo Casimiro Cavalcante  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab)

À Deus.

Aos meus pais, Leonardo e Eveline.

## AGRADECIMENTOS

À **FUNCAP**, pelo apoio financeiro a partir da bolsa de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas, pela excelente orientação, sábios conselhos profissionais e de experiências de vida que sempre me norteiam a tomar boas decisões.

Aos professores participantes da banca examinadora Dr. Deoclecio, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

A minha família, ao total apoio emocional, motivacional e financeiro em todos os momentos durante a vida e o curso de pós-graduação. Meus pais, Leonardo e Eveline, meus irmãos Melina, Leonardo, e Ivna, meus sobrinhos Gabriel, Miguel e Rafael que sempre estão tentando me mostrar as coisas boas da vida e que sem pestanejar me ajudam em tudo que preciso. Aos meus avós Raul e Tieta (in memoria), e Hipólito e Zilda pelos ensinamentos e vida simples que sempre admirei. A todos meus tios e primos, em especial minhas tias Celia e Fafá.

Aos colegas da turma de pós-graduação, pelas reflexões, críticas, sugestões recebidas e momentos de descontração. Em especial a todos do laboratório de abelhas e polinização da Universidade Federal do Ceará, que de certa forma, indireta ou diretamente contribuíram com a execução deste trabalho, em especial Leonardo Gurgel, Larisson Feitosa, Epifania Macedo, Nayanny Fernandes, Felipe Jackson, Victória Muniz, Conceição Parente, Janaely Silva, Paloma Eleuterio.

Aos momentos de descontração durante o almoço com a turma da cantina da Tia Graça, Professores Alek Sandro Dutra, Paulo Mendes, Ednardo Freitas, Luciano Silva, as Bibliotecárias Érica Barros, Aline Vieira e Lídia de Araújo, as amigas Ana Livia e a bióloga, ufóloga e viciada em álcool em gel (piada interna), Lídia, e a própria Tia Graça por momentos que tive que pendurar o almoço para pagar depois, vida de bolsista.

“A abelha é mais honrada que outros animais,  
não porque trabalha, mas por que trabalha para  
os outros.”

*San Juan Crisóstomo*

## RESUMO

Os agrotóxicos, em particular os sistêmicos dentre os quais se incluem os neonicotinoides, são considerados com uma das causas do declínio de populações da artropodofauna em geral, incluindo as abelhas manejadas e silvestres. A avaliação do risco de uso dessas moléculas para abelhas é feita de acordo com as normas estabelecidas internacionalmente que se baseiam no efeito do ingrediente ativo do agrotóxico em diferentes concentrações sobre a espécie de referência *Apis mellifera*. No entanto há questionamentos sobre a validade dessa abordagem. Portanto, o presente estudo teve por objetivo investigar a toxicidade de formulações comerciais de dois neonicotinoides (tiametoxam e tiaclopride) para duas espécies de abelhas nativas, *Trigona aff fuscipennis* e *Scaptotrigona aff depilis*. Para tanto, adaptou-se dos protocolos da OECD (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) para teste de toxicidade com abelhas, teste de mortalidade tópica e oral. Para a formulação comercial contendo tiametoxam, os resultados com *T. fuscipennis* foram, de 0,08131 e 0,08443 (24 h e 48 h) para valores de mortalidade topica, e de 0,00029 (24 h) para teste de toxicidade a exposição oral, enquanto para *S. depilis* observaram mortalidade a exposição topica de 0,06539 e 0,04474  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  (24 h e 48 h), e oral de 2,30472 e 1,18265  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  (24 h e 48 h). No caso da formulação comercial contendo tiaclopride, foram obtidos valores de exposição topica de 0,1578 e 0,11697  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  (24 h e 48 h), e quanto a exposição oral de 5,35627 e 2,8739  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  (24 h e 48 h) com *T. fuscipennis* e em *S. depilis* a valores de mortalidade tópica de 2,06348 e 0,00187  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  (24h e 48 h) e oral de 0,00489 e 0,00123  $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  (24 e 48 h). Portanto, concluímos que as abelhas sem ferrão *T. fuscipennis* e *S. depilis* são bem mais sensíveis às formulações comerciais dos agrotóxicos tiametoxam e tiaclopride do que a espécie de referência; que *Apis mellifera* possa não ser uma boa espécie de referência para avaliar a segurança da ação toxicológica dos agrotóxicos em abelhas; que o uso de uma única espécie como referência geral pode não avaliar os riscos toxicológicos adequadamente; e que existe a necessidade de se considerar as formulações comerciais em testes de avaliação de risco para abelhas.

**Palavras-chave:** meliponíneos; pesticida; avaliação de risco; seletividade; teste de toxicidade.

## ABSTRACT

Pesticides, particularly the systemic ones, which include the neonicotinoids, are considered one of the causes of the decline of the wildlife population in general, including managed and wild bees. The risk assessment of those molecules in bees is in accordance with international standards, which are based on the effect of the active ingredient of the pesticide in different concentrations on the reference species *Apis mellifera*. However, there are some issues concerning this approach. Thus, the present study aimed to investigate the toxicity of commercial formulations of two neonicotinoids (thiamethoxam and thiacloprid) in two species of stingless bees: *Trigona aff fuscipennis* and *Scaptotrigona aff depilis*. For this purpose, were adapted from the protocols of the OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) toxicity test with bees, topical and oral mortality test. For the commercial formulation with thiamethoxam, the results with *T.fuscipennis* were 0.08131 and 0.08443 for topical (24h and 48h, respectively), and 0.00029 to oral (24 h); as for *S. depilis*, there were results of 0.06539 and 0.04474 $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  topical (24h and 48h, respectively), also 2.30472 and 1.18265 $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  oral (24h and 48h, respectively). Regarding the commercial formulation with thiacloprid, there were results of 0.1578 and 0.11697 $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  LD50 (24h and 48h, respectively), 5.35627 and 2.8739 $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  oral (24h and 48h, respectively), with *T.fuscipennis*; also 2.06348 and 0.00187 $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  topical (24h and 48h, respectively) and 0.00489 e 0.00123 $\eta\text{g}/\mu\text{l}$  oral (24h e 48h, respectively) for *S. depilis*. Therefore, this study concludes that the *T.fuscipennis* and the *S. depilis* stingless bees are much more sensitive to the commercial formulation of the thiamethoxam and thiacloprid pesticides than the reference species; that *Apis mellifera* is not a good reference species for the assessment of the safety of the toxic action of pesticides in bees; that the use of a sole species as general reference may not assess the toxic risks properly; and that there is the need to take the commercial formulations into consideration in risk assessments for bees.

**Keywords:** meliponines; pesticide; risk assessment; selectivity; toxicity test.

## LISTA DE IMAGENS

Imagem 1 – Ninho natural de <i>Trigona aff. fuscipennis</i> .....	21
Imagem 2 – Ninho natural de <i>Trigona aff. fuscipennis</i> .....	22
Imagem 3 – Gaiola de aprisionamento para <i>Trigona aff. fuscipennis</i> .....	23

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resultados das estimativas pontuais e intervalares de exposição oral e exposição tópica da formulação comercial de tiametoxam e sua qualidade de ajuste de acordo com o teste de  $\chi^2$  de Pearson. T= *Trigona fuscipennis*, S= *Scaptotrigona aff depilis*, *gl* = graus de liberdade, LL = modelo log-logístico e MM = modelo Michaelis-Menten ..... 27
- Tabela 2 – Resultados das estimativas pontuais e intervalares de exposição oral e exposição tópica da formulação comercial de tiaclopride e sua qualidade de ajuste de acordo com o teste de  $\chi^2$  de Pearson. *gl* = graus de liberdade, LL = modelo log-logístico ..... 31

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Determinação da dose de mortalidade após exposição tópica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas do inseticida formulação comercial contendo Tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Trigona aff fuscipennis</i> .....	28
Figura 2 – Determinação da dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas, do inseticida contendo tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Trigona aff fuscipennis</i> .....	29
Figura 3 – Determinação da dose de mortalidade após exposição topica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Scaptotrigona aff depilis</i> .....	29
Figura 4 – Determinação da dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Scaptotrigona aff depilis</i> .....	30
Figura 5 – Determinação da dose de mortalidade após exposição topica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiaclopride como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Trigona aff fuscipennis</i> .....	31
Figura 6 – Determinação da dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiaclopride como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Trigona aff fuscipennis</i> .	32
Figura 7 – Determinação da dose de mortalidade após exposicção topica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiaclopride como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Scaptotrigona aff depilis</i> ...	32
Figura 8 – Determinação da dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiaclopride como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie <i>Scaptotrigona aff depili</i> .....	33

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
<b>2.1</b>	<b>Abelhas na polinização</b> .....	15
<i>2.1.1</i>	<i>Agrotóxicos</i> .....	15
<i>2.1.2</i>	<i>Abelhas e agrotóxicos</i> .....	17
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	20
<b>3.1</b>	<b>Objetivo específico</b> .....	20
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	21
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	27
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	43
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	44

## 1 INTRODUÇÃO

O crescente declínio dos polinizadores e o consequente impacto sobre a reprodução de plantas nativas e cultivadas dependentes do serviço de polinização é uma preocupação que se alastra atualmente. Muitos fatores são citados como responsáveis por este declínio, dentre eles a fragmentação de habitat, o desmatamento, as mudanças climáticas e os agrotóxicos (Freitas *et al.*, 2009). Os agrotóxicos são utilizados no controle de pragas (agrícolas, paisagismo, urbanas e domésticas), e seu uso tem causado muitos debates em virtude de seus efeitos tóxicos sobre os organismos não-alvos, criando uma ligação direta com a perda de polinizadores (SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014; IPBES, 2016).

Muitas culturas relevantes, tanto do ponto de vista econômico, como de segurança alimentar, dependem da aplicação de uma gama de agrotóxicos para o controle de pragas que podem comprometer a produção agrícola (ROCHA, 2012; OERKE, 2006). Assim, os polinizadores podem acabar diretamente expostos a concentrações subletais ou letais, seja por exposição direta aos produtos quando de sua aplicação ou devido a exposição do néctar e pólen necessários usados por esses organismos para a alimentação de adultos e formas jovens (CHAUZAT *et al.*, 2006; BOTÍAS *et al.*, 2015; RUNDLÖF *et al.*, 2015).

Os agrotóxicos, em particular os sistêmicos dentre os quais se incluem os neonicotinoides, são considerados como uma das causas do declínio de populações da fauna em geral, incluindo as abelhas manejadas e silvestres (VAN LEXMOND *et al.*, 2014; PISA *et al.*, 2017; ENG *et al.*, 2019). Os neonicotinoides foram introduzidos no mercado nos anos 90, e no ano de 2008 já constituíam 24% dos inseticidas disponíveis no mercado, com os ingredientes ativos tiametoxam, imidacloprida e clotianidina representando 86% desse total, enquanto o tiacloprida tinha 3,8% (JESCHKE *et al.*, 2011). Os neonicotinoides podem causar inúmeros prejuízos às abelhas tanto na fase de desenvolvimento quanto na fase adulta, como causar danos a orientação, comunicação, danos ao aprendizado e memória, longevidade e afetar o desenvolvimento de crias (FAROOQUI, 2012; GOULSON, 2013). Já foi possível comprovar que doses subletais de neonicotinoides afetam várias funções não só das abelhas como indivíduo, mas também a nível de colônia (DOUBLET *et al.*, 2015; LIMA; ROCHA, 2012).

A avaliação do risco de uso dessas moléculas para organismos vivos não-alvos é exigida por lei, e testes de toxicidade devem ser conduzidos de acordo com as normas

estabelecidas pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), que se baseiam no efeito do ingrediente ativo do agrotóxico sobre espécies eleitas como representantes dos diversos grupos potencialmente afetados pelo produto (BRASIL, 2017; OECD, 1998). No caso dos polinizadores, a abelha melífera (*Apis mellifera*) tem sido a espécie utilizada de forma mais ampla (BRITAIN; POTTS, 2011; RAINE; GILL, 2015). No entanto, essa abordagem vem sendo questionada tanto pelo fato de que o produto comercial utilizado no campo se trata de uma formulação, tendo o princípio ativo apenas como um dos ingredientes, quanto porque estudos recentes têm apontado que diferentes espécies de abelhas podem apresentar níveis distintos de susceptibilidade aos agrotóxicos, sugerindo que *Apis mellifera* não seja um modelo bem representativo das abelhas em geral (JACOB *et al.*, 2019; CHAM *et al.* 2019; CLAUS *et al.*, 2021).

Estudos a nível de campo, através dos quais são aplicadas as formulações comerciais de neonicotinóides, e não somente os ingredientes ativos, nos trazem observações de alguns comportamentos das abelhas *A. mellifera* e *Bombus terrestris* que fornecem indícios de que a colônia pode estar afetada por agrotóxicos, como um grande número de abelhas mortas nas proximidades da colmeia, queda na produção de larvas, baixo forrageamento e abelhas altamente defensivas, excessivo comportamento higiênico, dificuldade na substituição da rainha e má formação das larvas (BARON *et al.*, 2017; MOMMAERTS *et al.*, 2010; WHITEHORN *et al.*, 2012; HENRY *et al.*, 2012; GOULSON *et al.*, 2015; PISA *et al.*, 2015).

No entanto, os estudos de toxicidade dessas moléculas são feitos em laboratórios utilizando apenas o princípio ativo. É importante ressaltar que a formulação comercial, além do ingrediente ativo, possui também ingredientes inertes, suplementares e adjuvantes que visam estabilizar ou aumentar a eficiência do princípio ativo. A identidade desses componentes não é tornada pública pelas empresas, como também não se sabe se apresentam alguma toxicidade para as abelhas ou potencializam a toxicidade do ingrediente ativo. Apesar disso, a maioria dos estudos são conduzidos com os ingredientes ativos e não as formulações comerciais.

No que diz respeito aos testes de toxicidade de agrotóxicos em abelhas, outras espécies de abelhas diferentes de *A. mellifera* devem ser consideradas (SANTOS *et al.*, 2016). No Brasil, já foram descritas 1905 espécies de abelha, dentre essas 244 são abelhas sem ferrão (PEDRO, 2014; ASCHER; PICKERING, 2020). Os meliponíneos, popularmente conhecidos como abelhas sem ferrão, por exemplo, são considerados polinizadores importantes para uma diversidade de espécies de plantas das regiões tropicais e subtropicais, inclusive cultivos agrícolas. Aparentemente, essas abelhas são mais susceptíveis aos agrotóxicos do que *A.*

*mellifera*, e algumas espécies já foram utilizadas para ensaios de toxicidade de agrotóxicos: *Melipona beecheii* Bennett, *Trigona nigra* Provancher, e *Nannotrigona perilampoides* Cresson. (VALDOVINOS-NÚÑEZ *et al.*, 2009), *Scaptotrigona postica* Latreille (SOARES *et al.*, 2015), *Scaptotrigona postica* (JACOB *et al.*, 2015), *Melipona quadrifasciata* (TOMÉ *et al.*, 2015) *Scaptotrigona bipunctata* e *Tetragonisca fiebrigi* (DORNELES *et al.*, 2017), *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona xanthotricha* (QUIROGA-MURCIA *et al.*, 2017), *Osmia bicornis* Linnaeus (HEARD *et al.* 2017), *Melipona quadrifasciata anthidioides* (PRADO-SILVA *et al.*, 2018), (de JACOB *et al.*, 2019) *Melipona quadrifasciata* e *Tetragonisca fiebrigi* (PIOVESAN *et al.*, 2020)

Apesar de várias espécies de abelhas sem ferrão poderem ser testadas quanto às suas susceptibilidades a agrotóxicos, é inviável tanto economicamente, quanto operacionalmente, realizar testes de toxicidade com muitas espécies ao mesmo tempo. O ideal seria se utilizar uma ou duas espécies cujas colônias sejam populosas (os testes demandam muitos indivíduos) e que apresentem ampla distribuição geográfica, além de representar bem a susceptibilidade desse grupo de abelhas (CHAM *et al.*, 2019). Sendo assim, duas espécies que se enquadram bem nesse perfil são *Trigona aff fuscipennis* Friese e *Scaptotrigona aff depilis* Moure, ambas são abelhas de gêneros próximas as selecionadas por Pires (2018), para o IBAMA, que ocupam, na ordem de classificação dos critérios de importância de espécies a serem selecionadas, o oitavo e nono lugar respectivamente, uma vez que, para as duas espécies podem ser desenvolvido um manejo racional para a realização dos testes de toxicidade sem comprometimento da interferência no meio ambiente. Podendo essas espécies serem utilizadas como matriz de seleção, tendo em vista que a *Trigona spinipes*, que aparece em primeiro lugar nessa classificação, ainda não possui o manejo racional conhecido.

A *Trigona aff fuscipennis* Friese 1900, é comumente conhecida como sanharó, senharol ou abelha-brava (FRIESE, 1900; CAMARGO; MOURE, 1988), nidifica em cavidades pré-existentes (MATEUS *et al.*, 2009), na entrada do ninho constrói um tubo cilíndrico de cerume escuro endurecido (VERGARA *et al.*, 1986; ROUBIK, 2006), produz uma quantidade pequena de mel durante o ano, e é considerada uma abelha defensiva (POSEY, 1983). Já *Scaptotrigona aff depilis* Moure 1942, é uma espécie com características semelhantes às de *T. fuscipennis*, uma vez que também apresenta colônias populosas, que produzem pequenas quantidades de mel por ano (YAMAMOTO *et al.*, 2007) e constrói um tubo na entrada do ninho, e é uma espécie defensiva (MICHENER, 1974; KERR, 1996).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Abelhas na polinização

As abelhas sem ferrão são insetos eusociais, no Brasil, existe uma grande diversidade de espécies de abelhas nativas sem ferrão, número que varia entre 400 e 500 espécies (CASTRO *et al.*, 2006; RAFAEL, 2012; PEDRO, 2014). E essas espécies variam muito em tamanho, morfologia, fisiologia e espécies florais de preferência (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Abelhas sem ferrão são generalistas, mantêm colônias perenes e visitam vários tipos de flores para obter recursos (MICHENER, 2007). Essas abelhas possuem uma grande importância cultural (EARDLEY; KWAPONG, 2013); a meliponicultura, que é a criação racional dessas abelhas tem crescido muito (NUNES *et al.*, 2014), visto que as colônias são populosas e podem ser mantidas em uma área específica, além do fato de não possuírem ferrão, o que torna o manejo delas é mais fácil e prático, tornando-as espécies promissoras na polinização agrícola (CRUZ; CAMPOS, 2009).

#### 2.1.1 Agrotóxicos

Em áreas de plantações agrícola, pode-se observar várias espécies de abelhas, sejam elas sociais, silvestres, solitárias e manejadas. Essa abundância de espécies pode ser influenciada pela presença de áreas de preservação próximo a locais de cultivo (FREITAS *et al.*, 2014).

O controle de pragas em plantações tem sido realizado através de diversos produtos químicos, e essa atividade também causa transtornos em indivíduos não alvos. Por conta da diversidade de agrotóxicos e subprodutos gerados, se faz necessário uma análise de diversos cenários de forma individual, como por exemplo, a relação entre o uso de agrotóxicos e a saúde de insetos polinizadores (BIJLEVELD VAN LEXMOND *et al.*, 2015; PRADO *et al.*, 2019).

Nos últimos 50 anos, os agrotóxicos contribuem ativamente com a produção agrícola e a segurança alimentar no mundo, seja pela utilização de fertilizantes ou pelo uso de agrotóxico (OERKE, 2006). Esse último, possui a função de proteger as plantações agrícolas da ação das pragas, doenças e plantas daninhas, entretanto, muitas vezes, durante sua

utilização, acaba por atingir organismos não alvos (TILMAN *et al.*, 2002; HALLMANN *et al.*, 2017). Entre os agrotóxicos, um grupo de pesticidas que foi introduzido no mercado a partir dos anos 90 vem se tornando a classe mais utilizada no mundo, são eles os neonicotinoides (JESCHKE *et al.*, 2011), esse grupo de agrotóxicos possuem como molécula base a nicotina (FAROOQUI, 2012). Os neonicotinoides são inseticidas de ação sistêmica e de contato, podem penetrar nos tecidos das plantas translocando-se por meio dos vasos condutores de seiva, atingindo toda a planta e agem nos organismos, principalmente, naqueles que se alimentam succionando os tecidos. Eles atuam como agonistas da acetilcolina. O que acontece é que, após ocorrer a sinapse, as moléculas inseticidas se ligam aos receptores nicotínicos da acetilcolina (nAChRs) localizados no neurônio pós-sináptico. O resultado disso, é um estímulo constante da mensagem da acetilcolina no sistema, o que gera impulsos nervosos transmitidos continuamente, levando à hiperexcitação do sistema nervoso, com consequente paralisia e podendo levar a morte do organismo (MATSUDA *et al.*, 2005).

Em 2014, a participação no mercado alcançou 25% dos inseticidas vendidos, avaliada em cerca de 3 bilhões de dólares (BASS *et al.*, 2015), e têm sua utilização permitida em mais de 120 países, (NAUEN *et al.*, 2008) representando 25% de todos os agrotóxicos vendidos no mundo (JESCHKE *et al.*, 2010; BASS *et al.*, 2015; ROSA *et al.*, 2015). Os Neonicotinoides agem no sistema nervoso causando uma estimulação contínua como falado anteriormente, e a exposição crônica desses organismos pode ter efeitos acumulativos com o tempo, apresentando alta toxicidade para artrópodes, especialmente crustáceos e insetos.

No caso, para os insetos polinizadores, o maior perigo de exposição por esses agrotóxicos reside no fato deles apresentarem ação sistêmica, ou seja, circulam na seiva da planta e entram nas células vegetais, podendo se fazer presentes no pólen e no néctar, consequentemente sendo coletados por insetos que utilizam desses para alimentação, como as abelhas (SCHMUCK *et al.*, 2001; STONER *et al.*, 2012; DIVELY *et al.*, 2012; BYRNE *et al.*, 2014). Mas eles também podem ser encontrados na vegetação adjacente, em águas consumidas pelas abelhas, e todas essas formas de exposição podem afetar esses polinizadores com consequências diretas para algumas culturas que possuem algum grau de dependência da polinização realizada por esses insetos (ELBERT *et al.*, 2008; FAROOQUI, 2012). Mesmo em baixas concentrações, os neonicotinoides causam desorientação, comunicação reduzida, prejuízo no aprendizado e memória, longevidade reduzida dos adultos e perturbação dos ciclos de cria das abelhas (FAROOQUI, 2012; GOULSON, 2013).

Os neonicotinoides são constituídos por uma classe de sete princípios ativos: acetamipride, clotianidina, dinotefuran, imidaclopride, nitenpiram, tiaclopride e tiametoxam (JESCHKE *et al.*, 2011). Enquanto algumas moléculas se mostram pouco tóxicas para as abelhas, como o acetamipride e o tiaclopride, outras, como o imidaclopride, tiametoxam e clotianidina são altamente tóxicas (EFSA, 2012). Isso provavelmente se deve a sensibilização ocorrida no citocromos P450, responsável pela desintoxicação da abelhas após entrarem em contato com essas formulações contendo algum desses princípios ativos (MANJON *et al.* 2018).

O inseticida Tiametoxam, representado abaixo, (3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine) tem fórmula molecular C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S e uma massa molecular de 292,2 g mol<sup>-1</sup>, e foi sintetizado em 1991 como um pró-fármaco para a produção da clotianidina (THANY, 2011). O mesmo é considerado altamente tóxico para as abelhas (IWASA, 2004) e está sendo comercializado no Brasil sob os produtos comerciais Actara para aplicação no solo e pulverização foliar; e Cruiser para o tratamento de sementes (PEREIRA, 2010). O tiametoxam é utilizado no Brasil principalmente na cultura de café e laranja.

O tiaclopride é o nome comum ISO para {(Z) -3 - [(6-cloro-3-piridil) metil] tiazolidin-2- ilideno} cianamida (IUPAC), começou a ser desenvolvido no início dos anos 80 e teve como molécula base o imidaclopride, é um inseticida de contacto e combina baixas doses administradas com grande eficácia. Ele é comercializado em todo o mundo para aplicação foliar e pertence à classe dos neonicotinoides de 2<sup>a</sup> geração. É considerado menos tóxicos as abelhas (IWASA, 2004)

### **2.1.2 Abelhas e agrotóxicos**

Recentemente, o uso de neonicotinoides, vem sendo apontado como um dos fatores que pode estar relacionado com o declínio, tanto de abelhas manejadas, quanto de abelhas nativas (VAN DER SLUIJS *et al.*, 2013; GOULSON, 2013). Visando minimizar esses impactos sobre as abelhas e demais seres vivos, um agrotóxico para ser registrado comercialmente deve atender a normas de segurança estabelecidas pelos órgãos reguladores do país onde será utilizado, no caso Brasil, adotou um marco regulatório baseado na atuação tripartite de três ministérios agricultura (Ministério da Agricultura), saúde (Agência Nacional Vigilância Sanitária) e meio ambiente (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (IBAMA). No

caso de testes de toxicidade para abelhas, seguem padrões internacionais e compreendem uma série de testes de toxicidade do ingrediente ativo (i.a.) com protocolos estabelecidos pela OECD (OECD, 1998). Esses testes devem indicar a margem de segurança para o uso do produto em relação a grande maioria das espécies não-alvo que possam, potencialmente, entrar em contato com o mesmo a nível de campo. Por não ser possível testar o produto com todas as espécies possivelmente afetadas, normalmente uma espécie é escolhida para representar as demais, e os testes são realizados somente nessa espécie em questão e seus resultados extrapolados para todas as demais daquele grupo de organismos (aves, abelhas, espécies aquáticas, organismos do solo, etc.). No caso das abelhas, a espécie *Apis mellifera* tem sido, por muitos anos, o modelo utilizado para os testes da OECD por ser a espécie de abelha mais conhecida e estudada, além de possuir distribuição global, ser a mais comum nas áreas agrícolas, e por possuir manejo conhecido e colônias com grande número de indivíduos, o que facilita a obtenção de grande número de indivíduos para os testes.

No entanto, à medida em que estudos sobre o impacto dos agrotóxicos, especialmente os neonicotinoides, nas abelhas passaram a ser conduzidos com maior frequência, um questionamento surgiu: se existem sete famílias, 28 subfamílias, 67 tribos, 529 gêneros e mais de 20 mil espécies (DANFORTH *et al.*, 2019), os testes realizados com apenas uma espécie de abelha seriam realmente seguros? A espécie *Apis mellifera* seria um modelo realmente representativo da grande maioria de espécies, na maioria dos ambientes?

Uma série de estudos realizados com outras espécies de abelhas (*Bombus*, *Osmia* e abelhas sem ferrão) sugerem que várias espécies de abelhas podem ser mais susceptíveis ou apresentar susceptibilidade diferente para alguns compostos quando comparados com a espécie modelo, indicando a necessidade dos testes serem realizados com um leque maior de espécies, levando em consideração também as condições geográficas e ecológicas dos diversos ambientes ((MOMMAERTS *et al.*, 2010; WHITEHORN *et al.*, 2012; JACOOB *et al.*, 2012; DEL SARTO *et al.*, 2014; BARON *et al.*, 2017; MOREIRA *et al.*, 2018; JACOB *et al.*, 2019). De fato, recentemente foram desenvolvidos protocolos para testes de toxicidade aguda oral e por contato para *Bombus terrestris* (OECD, 2020), se encontra em desenvolvimento um teste de toxicidade aguda por contato para abelhas solitárias do gênero *Osmia* para toxicidade aguda oral e por contato para abelhas sem ferrão do gênero *Scaptotrigona* (BIDDINGER *et al.*, 2013; PHAN *et al.*, 2020; DORNELES; ROSA; BLOCHTEIN, 2016).

Um outro ponto importante é que todos esses testes padrões de toxicidade são realizados usando o princípio ativo do agrotóxico, enquanto no campo, a exposição sempre se

dá com o produto comercial, cujos efeitos, potencialmente, podem ser bem diferentes daqueles do ingrediente ativo (i.a.). Embora o i.a. seja o principal constituinte do produto formulado e comercializado, esse também inclui adjuvantes, estabilizantes, inertes, suplementar, os quais podem ser tóxicos por si mesmos, ou apresentarem uma ação sinérgica com o i.a., potencializando o seu efeito tóxico, diferente do observado e aprovado nos testes de toxicidade padrão (HOLLOWAY *et al.*, 1994; HOLLOWAY, 1998; SURGAN *et al.*, 2010). Portanto, há a necessidade de estudos da toxicidade de agrotóxicos, especialmente os neonicotinoides, que sejam conduzidos com outras espécies diferentes de *Apis mellifera*, bem como usando as formulações comerciais ao invés de somente os ingredientes ativos.

### 3 OBJETIVOS

Avaliar a mortalidade através da toxicidade de contato e oral de duas formulações comerciais de neonicotinoides Actara 250 WG e Calypso 480 SC, contendo como ingredientes ativos o tiametoxam e o tiaclopride, respectivamente, sobre duas espécies de abelha sem ferrão, *Trigona aff fuscipennis* e *Scaptotrigona aff depilis* (Hymenoptera: Apidae).

#### 3.1 Objetivo específico

Descobrir entre as duas espécies de abelhas selecionadas, qual a que apresenta maior sensibilidade para as duas formulações utilizadas e qual o meio de exposição é mais tóxico para essas abelhas

#### 4 MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi realizado durante os anos de 2019 e 2020, no Laboratório de Abelhas da Universidade Federal do Ceará. As espécies de abelhas *Trigona fuscipennis* e *Scaptotrigona aff depilis* foram selecionadas para serem utilizadas nesse experimento devido ao porte pequeno, apresentarem colônias populosas, grande abrangência territorial no país e possibilidade de manter em cativeiro ou para obtenção das abelhas para os testes. As abelhas de *T. fuscipennis* foram coletadas de ninho natural (figura 1), enquanto os indivíduos de *Scaptotrigona aff depilis* vinham de uma colônia manejada (figura 2), ambas no Setor de Abelhas do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza – CE, Brasil, localizado nas coordenadas geográficas 3.74° S e 38.58° W. As abelhas campeiras foram o grupo de indivíduos selecionados para fazer parte do experimento, pois são essas abelhas que naturalmente estariam entrando em contato com os agrotóxicos em campo, seja no momento da aplicação quando tivesse em atividade de voo, em atividade de forrageamento ou, quando pousam nas folhas, ou colhem os recursos florais como pólen e néctar.

Imagem 1 – Ninho natural de *Trigona aff Fuscipennis*



Fonte: autoria própria.

Imagem 2 – Colônia manejada de *Scaptotrigona aff depilis*



Fonte: autoria própria.

As abelhas foram coletadas na frente de seus respectivos ninhos, utilizando uma gaiola de plástico improvisada de fabricação própria (figura 3), somente para realização da captura das abelhas, para o caso de *T. fuscipennis*, e um aspirador bucal para *Scaptotrigona aff depilis*. Após a captura, as abelhas eram levadas ao laboratório para dar início ao experimento.

Imagem 3 – Gaiola de aprisionamento para *Trigona aff. fuscipennis*

Fonte: autoria própria.

Os experimentos de exposição foram estruturados a partir de adaptações dos teste que tratam de toxicidade de abelhas de N° 213, N° 214 e N° 245 do protocolo OECD (OECD, 1998a,b; 2017) para a comparação da toxicidade das formulações comerciais por meio tópico e oral. As formulações comerciais dos agrotóxicos testados Actara 250 WG® e Calypso 480SC®, contendo como ingrediente ativos tiametoxam e tiaclopride, respectivamente, foram os agrotóxicos selecionados para o experimento. Sendo assim, inúmeros testes preliminares com diferentes dosagens reduzidas dos agrotóxicos foram realizados para conseguir uma dose que permitisse prosseguir com o experimento para doses de mortalidade.

Uma amostragem com cinco doses de cada agrotóxico foi adotada para o experimento, seguindo Carvalho *et al.* (2017), o qual atribui esse número de doses como o mínimo necessário para a realização de bioensaios toxicológicos com insetos, válido para os dois testes; o teste de toxicidade tópica e oral. Além das cinco doses selecionadas, foi adicionada mais uma dose sem contaminantes como controle. Para cada dose testada, 30 abelhas de cada espécie eram contaminadas e aprisionadas em gaiolas, inclusive para testemunha negativa (sem contaminantes). Em cada rodada de teste, foram utilizadas 180 abelhas e que ao final, 150 delas eram sacrificadas, caso sobrevivessem a exposição aos agrotóxicos. As abelhas mantidas no teste branco que continuassem vivas eram liberadas próximas aos seus ninhos de

origem. As abelhas da espécie *Trigona fuscipennis* foram anestesiadas por resfriamento em um freezer a uma temperatura de  $-2^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos. As abelhas da espécie *Scaptotrigona aff depilis* mostraram-se extremamente sensíveis, morrendo rapidamente mesmo em períodos mais curtos que um minuto. Dessa forma, para se evitar grandes mortalidades, a aplicação ocorreu com as abelhas aprisionadas na mão, sem a necessidade de resfriamento, sendo essas colocadas nas gaiolas logo após. Dando prosseguimento, no teste de toxicidade tópica, o volume de  $1\mu\text{L}$  da solução contendo agrotóxico, já diluído nas respectivas concentrações, foi aplicado na região do *pronotum* de cada abelha, contando-se para isso com o auxílio de uma micropipeta monocanal de volume variável. O grupo do teste em branco, sem agrotóxico, recebeu o mesmo volume de  $1\mu\text{L}$  de água destilada, sendo sempre o primeiro grupo a receber as aplicações para assegurar que não seriam contaminados, mesmo que acidentalmente. Já para o teste de toxicidade por via oral, as abelhas eram aprisionadas em gaiolas e o alimento contaminado (xarope) por agrotóxico era fornecido nas dosagens preestabelecidas por meio de tubos do tipo de ensaio tipo *ependorf*, onde ficavam durante todo o experimento.

Após serem expostas aos produtos, as abelhas foram colocadas em uma bandeja plástica por 10 minutos. Essas abelhas eram agrupadas em gaiolas de plástico de 250 mL perfurados na tampa para haver circulação de ar e mantidas em câmaras climatizadas tipo BOD (demanda bioquímica de oxigênio) reguladas à  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  com suprimento de água e alimento (xarope de água destilada + açúcar refinado cristal, na proporção 1:1) sem exposição, servidos à vontade em potes plásticos com uma tela para que as abelhas não morressem afogadas. As abelhas selecionadas para o teste negativos eram colocadas em BOD diferentes, para evitar exposição por solubilização. As observações eram realizadas à cada 24 e 48 horas após o início do experimento, tanto para o teste de exposição tópica, quanto para o teste de exposição oral, anotando-se, a cada horário estabelecido, o número de abelhas vivas e mortas. A morte das abelhas foi aferida após elas não responderem a estímulos. Para os agrotóxicos selecionados, tiametoxam e tiaclopride, os testes se desenvolveram conforme a seguir.

a) **Formulação comercial contendo tiametoxam (Actara 250 WG®);**

Após o período preliminar de testes, as cinco dosagens selecionadas para o experimento foram: abelhas da espécie *Trigona fuscipennis*, o teste de toxicidade tópica contou com as concentrações de  $0,1\text{ ng p.c./}\mu\text{L}$  -  $0,2\text{ ng p.c./}\mu\text{L}$  -  $0,3\text{ ng p.c./}\mu\text{L}$  -  $0,4\text{ ng p.c./}\mu\text{L}$  -

0.5 ng p.c./ $\mu$ L e para o teste de toxicidade oral foram utilizadas concentrações de 0.001 ng p.c./ $\mu$ L- 0.002 ng p.c./ $\mu$ L - 0.003 ng p.c./ $\mu$ L- 0.004 ng p.c./ $\mu$ L - 0.005 ng p.c./ $\mu$ L; abelhas da espécie *Scaptotrigona aff depilis*, o teste de toxicidade oral foi realizado com as concentrações de 0.01 ng p.c./ $\mu$ L- 0.02 ng p.c./ $\mu$ L- 0.03 ng p.c./ $\mu$ L- 0.04 ng p.c./ $\mu$ L- 0.05 ng p.c./ $\mu$ L e a toxicidade por topica foi conduzido com concentrações de 0.02 ng p.c./ $\mu$ L- 0.04 ng p.c./ $\mu$ L- 0.06 ng p.c./ $\mu$ L- 0.08 ng p.c./ $\mu$ L- 0,1 ng p.c./ $\mu$ L.

Os resultados foram analisados por meio de modelos de regressão não linear de dose-resposta. As funções empregadas para ajustar os modelos foram a log-logística e a Michaelis-Menten. As expressões de tais funções foram:

$$\text{Log-logística: } f(x) = c + d - c \frac{1}{1 + \exp[b(\log(x) - \log(e))]};$$

$$\text{Michaelis-Menten: } f(x) = c + d - c \frac{1}{1 + m/x};$$

No qual:

$e$  equivale a mortalidade do teste de toxicidade tópica ou oral;

$b$  denota a inclinação relativa ao redor de  $e$ ;

$c$  é o limite inferior;

$d$  é o limite superior.

$m$  (no modelo Michaelis-Menten) corresponde à dose que produz uma resposta exatamente no ponto  $c+d/2$ , que neste caso corresponde a toxicidade tópica ou oral (dado que  $c \cong 0$  e  $d \cong 1$ ).

O modelo Michaelis-Menten foi aplicado apenas para modelar a proporção de mortes das abelhas *Trigona aff fuscipennis* submetidas ao teste de toxicidade oral por 24 horas do agrotóxico tiametoxam. Esse emprego foi uma alternativa devido à falta de ajuste do modelo log-logístico aos dados. O Qui-quadrado de Pearson foi empregado para analisar a bondade de ajuste dos modelos aos dados. A hipótese nula é de que o modelo se adequa bem aos dados. Portanto, valores de  $p > 0,05$  sugerem que o modelo é adequado.

#### **b) Formulação comercial contendo tiaclopride (Calypso 480SC®);**

Após o período preliminar de testes, as cinco dosagens selecionadas para o experimento foram: as abelhas *Trigona aff. fuscipennis*, na qual o teste toxicidade tópica foi

realizado com as concentrações de 0.1 ng p.c./ $\mu$ L ; 0.2 ng p.c./ $\mu$ L; 0.3 ng p.c./ $\mu$ L; 0.4 ng p.c./ $\mu$ L; 0.5 ng p.c./ $\mu$ L e para o teste de toxicidade oral as concentrações foram 1 ng p.c./ $\mu$ L; 2 ng p.c./ $\mu$ L; 3 ng p.c./ $\mu$ L; 4 ng p.c./ $\mu$ L; 5 ng p.c./ $\mu$ L. Para as abelhas *Scaptotrigona aff depilis*, o teste toxicidade tópica foi conduzido com as concentrações de 0.001 ng p.c./ $\mu$ L; 0.002 ng p.c./ $\mu$ L; 0.003 ng p.c./ $\mu$ L; 0.004 ng p.c./ $\mu$ L; 0.005 ng p.c./ $\mu$ L e no teste de toxicidade oral foram utilizadas concentrações 0.002 ng p.c./ $\mu$ L; 0.004 ng p.c./ $\mu$ L; 0.006 ng p.c./ $\mu$ L; 0.008 ng p.c./ $\mu$ L; 0.01 ng p.c./ $\mu$ L.

Os resultados foram analisados por meio de modelos de regressão não linear de dose-resposta. As funções empregadas para ajustar os modelos foram a log-logística. As expressões de tais funções foram:

$$\text{Log-logística: } f(x) = c + d - c \frac{1}{1 + \exp[b(\log(x) - \log(e)) ]}$$

Na qual:

$e$  equivale a mortalidade do teste de toxicidade tópica ou oral;

$b$  denota a inclinação relativa ao redor de  $e$ ;

$c$  é o limite inferior;

$d$  é o limite superior.

O qui-quadrado de Pearson foi empregado para analisar a bondade de ajuste dos modelos aos dados. A hipótese nula é de que o modelo se adequa bem aos dados. Portanto, valores de  $p > 0,05$  sugerem que o modelo é adequado.

## 5 RESULTADOS

### a) Formulação comercial contendo tiametoxam (Actara 250 WG®);

Na tabela 1, são apresentados os resultados das estimativas pontuais e intervalares de exposição tópica e exposição oral e sua qualidade de ajuste de acordo com o teste de  $\chi^2$  de Pearson. Atente que todos os *p* – valores são maiores que 0.05, sugerindo que os modelos empregados descrevem corretamente os dados.

**Tabela 1** – Resultados das estimativas pontuais e intervalares de mortalidade por exposição oral e exposição tópica da formulação comercial de tiametoxam e sua qualidade de ajuste de acordo com o teste de  $\chi^2$  de Pearson. T= *Trigona fuscipennis*, S= *Scaptotrigona aff depilis*, *gl* = graus de liberdade, LL = modelo log-logístico e MM = modelo Michaelis-Menten.

Formulação	Espécie	Teste	Horas	ng/ $\mu$ l	Intervalo De Confiança		Qualidade De Ajuste			Modelo Empregado
					2,50%	97,50%	gl	$\chi^2$	p-valor	
Thiametoxam	T	exposição tópica	24	0,08131	0,04619	0,11644	13	15,278	0,29	LL
	T		48	0,08443	0,06045	0,10841	13	7,357	0,883	LL
	S		24	0,06539	0,04003	0,09076	13	20,963	0,074	LL
	S		48	0,04474	0,03215	0,05733	13	12,981	0,449	LL
	T	exposição oral	24	0,00029	0,89244	1,0583	12	9,179	0,688	MM
	S		24	2,30472	-6,48627	11,09572	13	5,728	0,955	LL
	S		48	1,18265	-3,44017	5,80547	13	13,835	0,386	LL

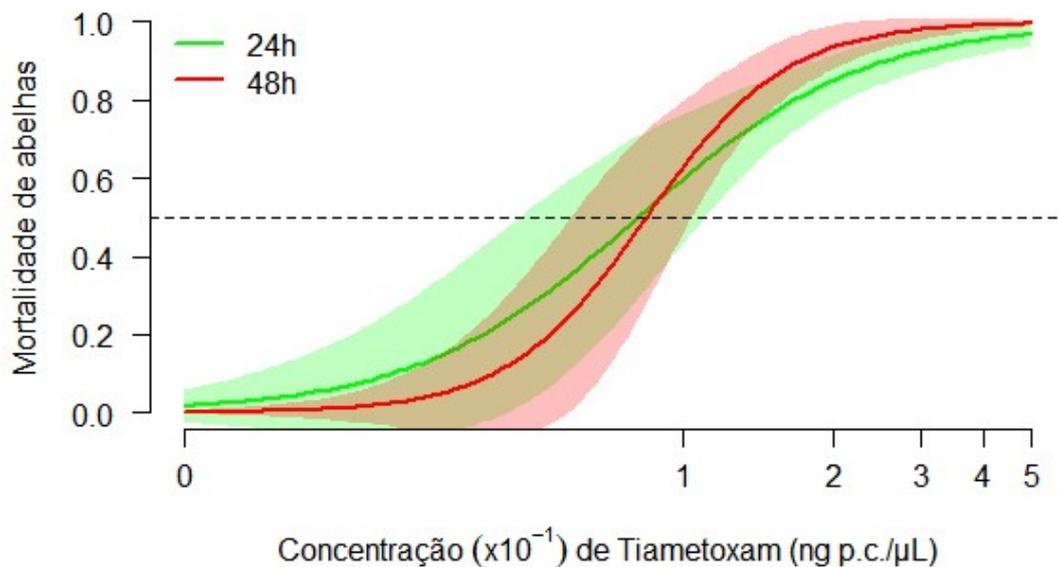
Fonte: autoria própria.

A partir dos dados de mortalidade, foram calculados os valores de toxicidade de exposição tópica e exposição oral, em 24 e 48 horas após o início da exposição das abelhas ao tiametoxam: As abelhas da espécie *Trigona fuscipennis* tiveram sua dose sua toxicidez de exposição tópica de 0,08131 ng p.c / $\mu$ L/abelha em 24 horas e de 0,08443 ng p.c/ $\mu$ L/abelha em

48 horas, já para os valores de exposição oral, para a mesma espécie, foi de 0,00029 ng p.c / $\mu$ L/dieta em 24 horas. A utilização da dose do experimento do presente trabalho não originou valores para toxicidade de exposição oral após 48 horas de iniciado, isso porque as abelhas não sobreviveram. Todas as abelhas morreram com a concentração mínima, o que não permitiu a convergência do modelo mais que 24 horas, não sendo possível aferir a dose para o intervalo de 48 horas.

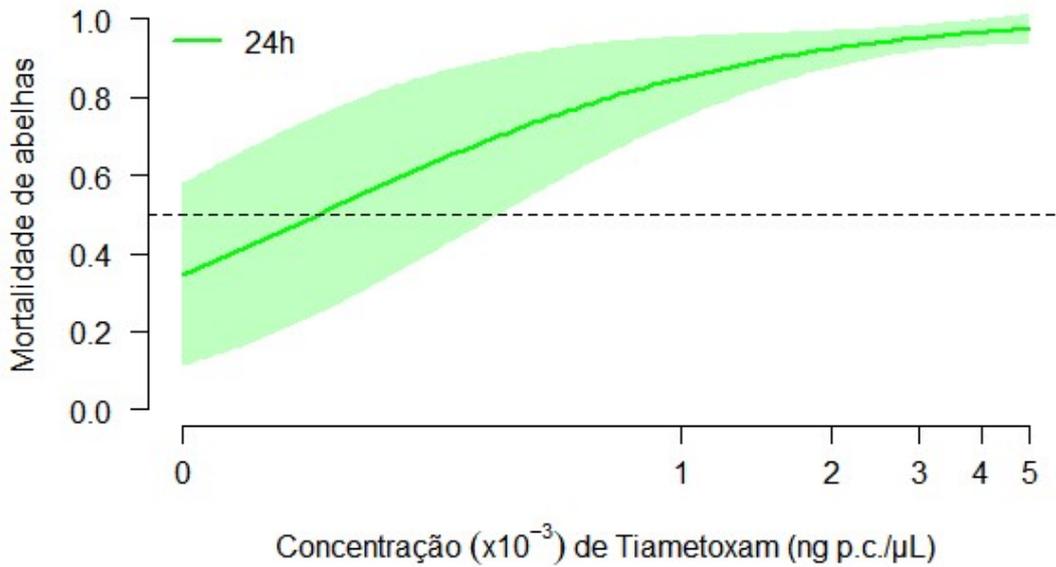
As abelhas da espécie *Scaptotrigona aff depilis*, apresentaram valores de toxicidez à exposição tópica de 0,06539 ng p.c / $\mu$ L/abelha em 24 horas e de 0,04474 ng p.c/ $\mu$ L/abelha em 48 horas, já para os valores de exposição oral, para a mesma espécie, foi de 2,30472 ng p.c / $\mu$ L/dieta em 24 horas e após 48 horas de 1,18265 ng p.c / $\mu$ L/dieta.

**Figura 1** – Determinação de dose de mortalidade após exposição tópica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Trigona fuscipennis*.



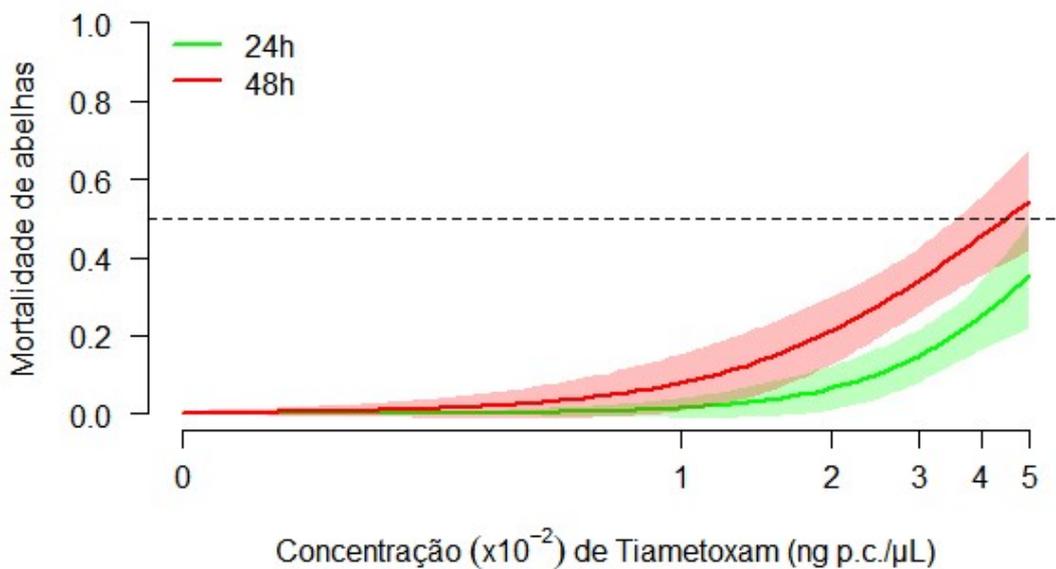
Fonte: autoria própria.

**Figura 2** – Determinação de dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Trigona*



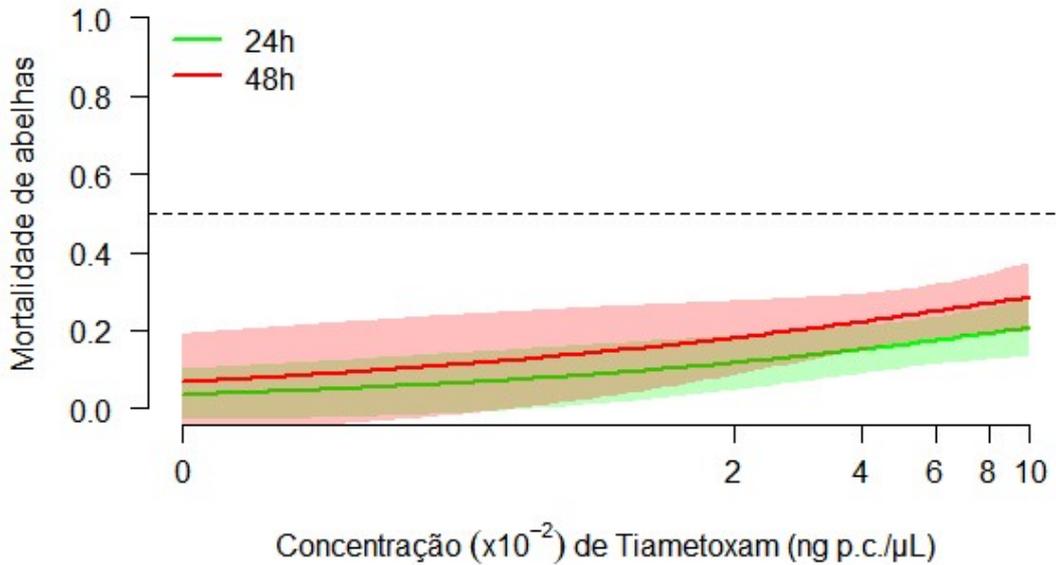
Fonte: autoria própria.

**Figura 3** – Determinação de dose de mortalidade após exposição tópica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Scaptotrigona aff depilis*.



Fonte: autoria própria.

**Figura 4** – Determinação de dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiametoxam como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Scaptotrigona aff depilis*.



Fonte: autoria própria.

#### **b) Formulação comercial contendo tiaclopride (Calypso 480 SC®);**

Na Tabela 2 são apresentados os resultados das estimativas pontuais e intervalares de exposição oral e exposição tópica e sua qualidade de ajuste de acordo com o teste de  $\chi^2$  de Pearson. Atente que todos os *p* – valores são maiores que 0.05, sugerindo que os modelos empregados descrevem bem os dados.

A partir dos dados de mortalidade, foram calculados os valores de toxicidade para exposição tópica e exposição oral, em 24 e 48 h após o início da exposição das abelhas ao tiaclopride: As abelhas da espécie *Trigona fuscipennis* tiveram sua toxicidade aferida para o teste de exposição tópica de 0,1578 ng p.c /μL/abelha em 24 horas (Tabela 2) e de 0,11697 ng p.c/μL/abelha em 48 horas (tabela 1) já para os valores de toxicidade via exposição oral, para a mesma espécie, foi de 5,35627 ng p.c /μL/dieta em 24 horas e exposição oral 2,8739 ng p.c /μL/dieta para 48 horas.

Já as abelhas da espécie *Scaptotrigona aff depilis*, apresentaram valores de toxicidez à exposição tópica de 2,06348 ng p.c /μL/abelha em 24 horas e de 0,00187 ng p.c/μL/abelha em

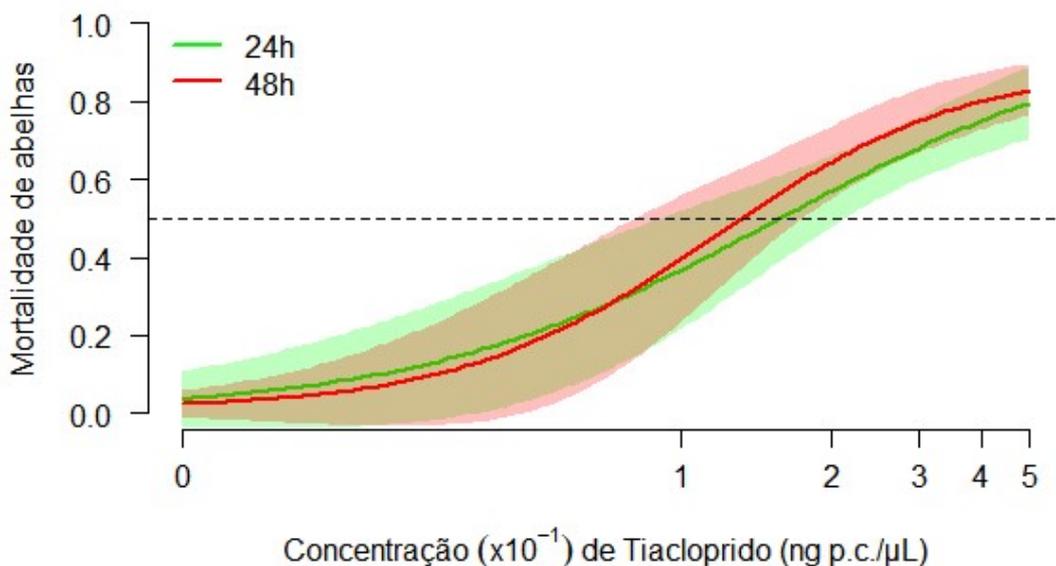
48 horas, já para os valores de exposição oral, para a mesma espécie, foi de 0,00489 ng p.c / $\mu$ L/dieta em 24 horas e após 48 horas de 0,00123 ng p.c / $\mu$ L/dieta.

**Tabela 2** – Resultados das estimativas pontuais e intervalares de mortalidade por exposição oral e exposição tópica da formulação comercial de tiaclopride e sua qualidade de ajuste de acordo com o teste de  $\chi^2$  de Pearson. *gl* = graus de liberdade, LL = modelo log-logístico.

FORMULAÇÃO	ESPECIE	TESTE	HORAS	ng/ $\mu$ l	INTERVALO DE CONFIANÇA		QUALIDADE DE AJUSTE			MODELO EMPREGADO
					2,50%	97,50%	gl	$\chi^2$	p-valor	
TIACLOPRIDE	T	exposição tópica	24	0,1578	0,09899	0,21662	13	19,231	0,116	LL
	T		48	0,11697	0,07229	0,16166	16	25,14	0,067	LL
	S		24	2,06348	-22,6092	26,73617	13	7,272	0,888	LL
	S		48	0,00187	0,00128	0,00247	13	4,429	0,986	LL
	T	exposição oral	24	5,35627	3,66923	7,0433	13	8,917	0,779	LL
	T		48	2,8739	2,34976	3,39804	13	4,129	0,99	LL
	S		24	0,00489	0,00319	0,00658	16	23,61	0,098	LL
	S		48	0,00123	-0,00006	0,00253	13	21,887	0,057	LL

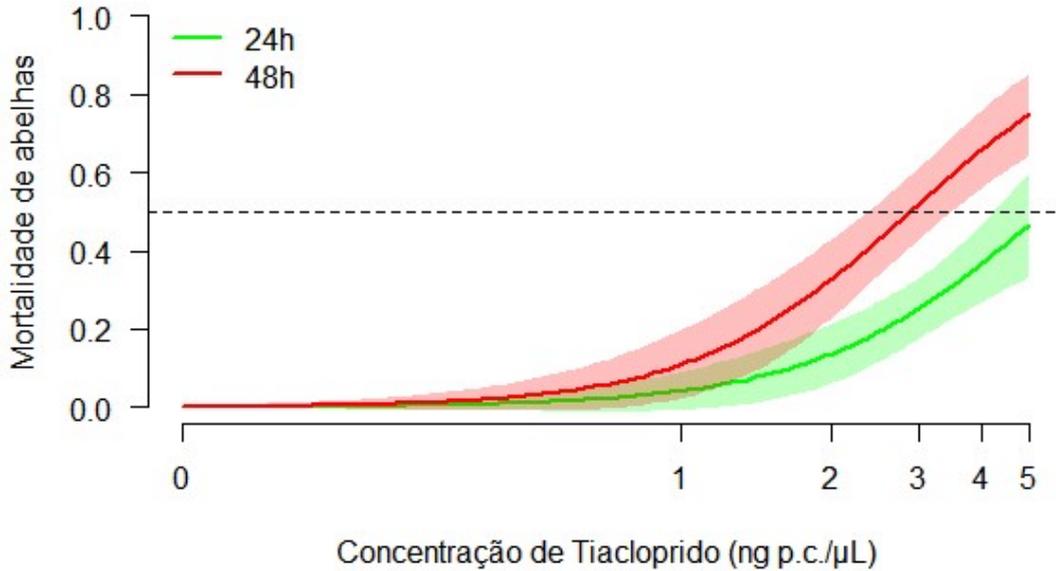
Fonte: autoria própria.

**Figura 5** – Determinação de dose de mortalidade após exposição tópica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiaclopride como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Trigona fuscipennis*.



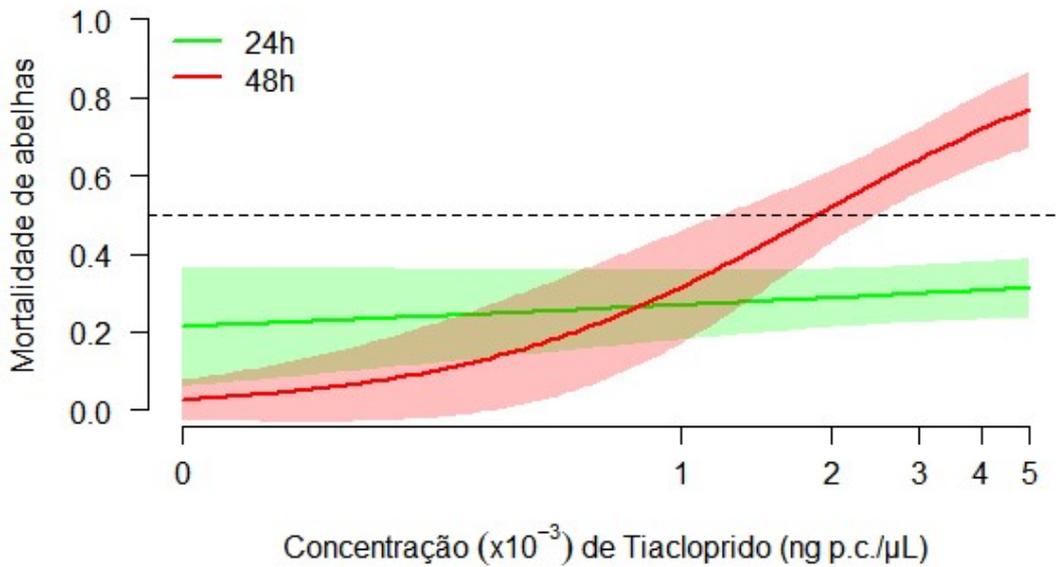
Fonte: autoria própria.

**Figura 6** – Determinação de dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiacloprido como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Trigona fuscipennis*.



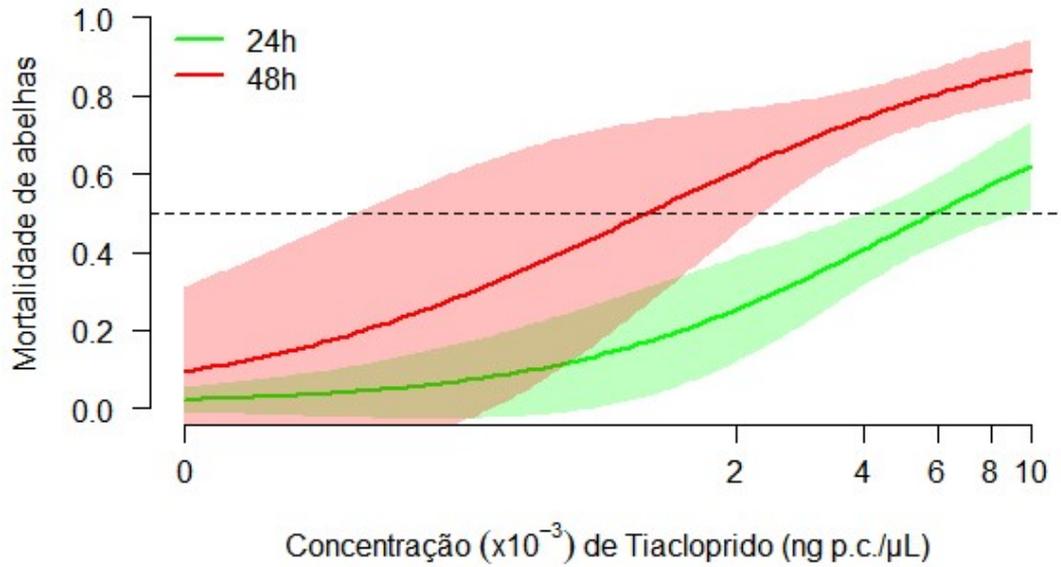
Fonte: autoria própria.

**Figura 7** – Determinação de dose de mortalidade após exposição tópica, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiacloprido como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Scaptotrigona aff depilis*.



Fonte: autoria própria.

**Figura 8** – Determinação de dose de mortalidade após exposição oral, nos intervalos de 24 horas e 48 horas, do inseticida contendo Tiacloprido como princípio ativo, para abelhas operárias da espécie *Scaptotrigona aff depilis*.



Fonte: autoria própria.

## 6 DISCUSSÃO

A grande maioria dos trabalhos produzidos sobre toxicidade de agrotóxicos em abelhas é realizada usando o princípio ativo dos produtos comerciais e a espécie *Apis mellifera* como modelo biológico (OECD, 1998; FAROOQUI, 2012; LIMA; ROCHA, 2012; DOUBLET *et al.*, 2015; PISA *et al.*, 2015). Contudo, existem estudos realizados com outras espécies de abelhas (DEL SARTO *et al.*, 2014; JACOB *et al.*, 2012) entretanto ainda poucos testando a toxicidade das formulações comerciais (JACOB *et al.*, 2019). O presente estudo gerou novos dados e produziu resultados originais sobre o efeito de dois produtos comerciais à base de neonicotinoides e o fez em duas espécies de abelhas sem ferrão, contribuindo para minimizar essa lacuna de informações.

Investigando os diversos ingrediente ativos dos neonicotinoides, Iwasa *et al.* (2004) ranqueou alguns destes por seu efeito tóxicos as abelhas *A. mellifera* com base na DL50 em 24h para os pertencentes ao nitro-grupo: imidacloprid > clothianidin > tiametoxam > dinotefuran > nitenpyram; e para os pertencentes ao ciano-grupo: acetamiprid > tiaclopride. Considerando apenas os ingredientes ativos dos dois produtos comerciais usados no presente estudo, o tiaclopride é aquele que possui o efeito menos tóxico em comparação aos demais neonicotinoides testados, corroborando com Mommaerts *et al.* (2010), Blacquièrre *et al.* (2012) e Pisa *et al.* (2015) que observaram que o tiaclopride tem propriedades menos tóxicas para as abelhas melíferas que o clothianidin, imidacloprid ou tiametoxam.

De fato, no caso específico do princípio ativo da outra formulação, o tiametoxam, Henry *et al.* (2012 a, b) relatam uma alta mortalidade, levando a grande perda de abelhas mais velhas, mas com as operárias apresentando maiores taxas de sobrevivência quando expostas a menores doses. Já Kakamand *et al.* (2008) relataram que tiametoxam em concentrações subletais culmina numa redução na taxa de sobrevivência em abelhas jovens, podendo essa causa estar relacionada com a imunossupressão causada pelo efeito tóxico do neonicotinoide (Zhu *et al.*, 2020) em concentrações não realísticas de campo, em abelhas operárias mais velhas a baixa concentração causaram altas taxas de mortalidade (96.67%) ocasionadas pela destruição celular do intestino.

O estudo, conduzido com duas espécies de abelhas sem ferrão e duas formulações comerciais a base de tiametoxam e tiaclopride, os resultados mostraram-se contrastantes entre as espécies de abelhas, tanto no que diz respeito a susceptibilidade dos testes de toxicidade tóxico e oral, quanto na toxicidade dos neonicotinoides avaliados.

**a) Tiametoxam (Actara 240 WG®)**

A formulação comercial aqui estudada, tendo como princípio ativo o ingrediente tiametoxam, apresentou-se tóxica para as duas espécies de abelhas nativas testadas. Nesse trabalho, quando comparadas as duas formas de exposição (tópica e oral) entre as duas espécies de abelhas, foi observado que em *Trigona fuscipennis*, a dose tópica apresentou menor toxicidade do que a forma de exposição oral, onde níveis muito baixos foram capazes de matar todos os indivíduos selecionados para o teste em até 24 horas após exposição.

Os valores de toxicidade encontrados no teste por exposição tópica para a espécie *Trigona fuscipennis* não diferiram quando comparados os resultados de 24 e 48 horas, tendo havido apenas pequeno aumento na concentração para 48h horas. No entanto, a formulação comercial se mostrou mais tóxica para essa espécie de abelha do que para *Apis mellifera* no estudo de feito com o ingrediente ativo (LAURINO *et al.*, 2011), independentemente do tempo de exposição. Já no que se refere ao teste de toxicidade por exposição oral, a formulação comercial matou todos os indivíduos do teste em 24h, mesmo em concentrações menores que quando comparados aos resultados encontrados de DL50 para o ingrediente ativo em *Apis mellifera* (ALIOUANE *et al.*, 2009; WINTERMANTEL *et al.*, 2020). Esse resultado impediu aferir a mortalidade do teste de exposição tópica em 48h. Portanto, *Trigona fuscipennis* mostrou-se extremamente sensível à formulação comercial a base de tiametoxam testada nesse estudo, especialmente no que se refere a forma de exposição oral.

Em relação a *Scaptotrigona aff depilis*, embora os valores encontrados para toxicidade por exposição tópica tenham se comportado dentro dos padrões de diminuição das 24h para as 48h, eles foram menores do que os encontrados para estudos de DL50 para o princípio ativo em *Apis mellifera* e outras abelhas sem ferrão (LAURINO *et al.*, 2011, MOREIRA *et al.*, 2018) contudo, mais tolerantes que *Apis cerana*, para esse princípio ativo (YASUDA *et al.*, 2017). No que se refere aos dados obtidos para exposição oral, embora apresentando o mesmo padrão de doses maiores para as 24h e menores para as 48h, *Scaptotrigona aff depilis* mostrou-se bem mais tolerante ao produto comercial utilizado do que *Trigona fuscipennis*, e mesmo *Apis mellifera* como observados para CL50 com o ingrediente ativo por Laurino *et al.*, (2011). Esse resultado se mostra diferente dos estudos sobre a toxicidade de agrotóxicos em abelhas através da qual, independentemente de espécie e princípio ativo, geralmente

demonstram que a forma de exposição oral é bem mais letal do que a tópica (DECOURTYE; DEVILLERS, 2010; BLACQUIÈRE *et al.*, 2012; DEL SARTO *et al.*, 2014).

Muitos são os fatores que estão envolvidos com a resposta de cada espécie à exposição a produtos tóxicos, como o tempo de exposição, a concentração da dose, o sistema de desintoxicação, tipo de alimento, exposição do alimento, dentre outros (SUCHAIL *et al.*, 2001; DECOURTYE *et al.*, 2010; SOARES, 2012; JACOB *et al.*, 2014; GURGEL, 2020). Decourtye *et al.* (2010), trabalhando com *Apis mellifera*, observou que abelhas operárias apresentaram altas taxas de mortalidade quando alimentadas com pólen contaminados. Não obstante, Suchail *et al.* (2001), usando o mesmo neonicotinoide, agora, utilizando como meio contaminado uma concentração de água com açúcar, precisou de uma dose menor para obter resultados semelhantes. Talvez o meio de exposição possa influenciar na potencialidade do produto como mostra a divergência encontrada nos trabalhos de Gurgel (2020) e de Soares (2012) trabalhando com imidacloprid e espécies de abelhas próximas, *Scaptotrigona aff depilis* e *Scaptotrigona postica*. Nesse caso, os autores encontraram valores diferentes de toxicidade para o teste CL50, onde um utilizou uma concentração de açúcar e água destilada e o outro, um mix proteico, respectivamente.

O presente estudo utilizou o tempo de exposição padrão (24h e 48h) e a concentração da dose em função das concentrações encontradas nos pré-testes realizados para os testes de toxicidade por exposição tópica e exposição oral. Sendo assim, talvez diferenças no sistema de desintoxicação das espécies de abelhas estudadas, expliquem melhor as marcantes diferenças encontradas tanto em susceptibilidade quanto na tolerância em relação ao produto comercial testado. De fato, Manjon *et al.* (2018) trabalhando com o princípio ativo do Imidacloprido e Tiaclopride explicaram resultados obtidos entre *Apis mellifera* e *Bombus terrestris*, e equivalentes aos aqui observados, por meio das diferenças encontradas nos citocromos e metabólitos relacionados com mecanismo de desintoxicação dessas espécies, demonstrando rotas diferentes para as duas espécies, onde após o contato com os neonicotinoides utilizados um ou um grupo do citocromo P450 foi responsável pela tolerância da abelha *Apis mellifera* ao neonicotinoide tiaclopride, e para a espécie de *Bombus* usada, não houve sensibilização do mesmo grupo e nem apresentou tolerância ao mesmo neonicotinoide. No entanto, trabalhos que abordam a toxicidade de inseticidas para *A. mellifera* e abelhas sem ferrão com base em valores de DL50 apontam uma maior tolerância da primeira em relação aos meliponíneos (VALDOVINOS-NÚÑEZ *et al.*, 2009; HARDSTONE; SCOTT, 2010; JACOB *et al.*, 2012; LOURENÇO *et al.*, 2012).

Além dos efeitos letais, os agrotóxicos também são responsáveis por vários efeitos subletais, já bem documentados e descritos para as *Apis mellifera*, mas pouco conhecidos para outras espécies de abelhas, especialmente os meliponíneos (FREITAS; PINHEIRO, 2012; PINHEIRO; FREITAS, 2010; BAINES *et al.*, 2017). Estudos realizados até o momento, abordando testes de toxicidade do princípio ativo de vários neonicotinoides conduzidos com operárias adultas de *A. mellifera* têm reportado efeitos prejudiciais em nível de colônia sobre a orientação das abelhas campeiras, diminuição de forrageamento e aumento da mortalidade (HENRY *et al.*, 2012); diminuição na comunicação e mobilidade desses insetos, indução de mudanças morfofisiológicas em diferentes órgãos internos (CATAE *et al.*, 2014; GREGORC *et al.*, 2016); efeitos citotóxicos no cérebro das abelhas, atingindo neurônios e também as células do intestino (MOBBS, 1985; FAHRBACH, 2006; FAHRBACH, *et al.*, 1998; KOMISCHKE *et al.*, 2005; ROSSI *et al.*, 2013); inquietude das abelhas (LAMBIN *et al.*, 2001); além de diferentes efeitos subletais, como hiperatividade, tremores, lentidão ou ausência de movimentos (BAINES *et al.*, 2017); perda do aprendizado olfatório, reflexo de extensão da probóscide, alteração no aprendizado, na percepção dos teores de açúcar de um alimento e água (EL HASSANI *et al.*, 2008; ALIOUANE *et al.*, 2009).

Fischer *et al.* (2014) expuseram abelhas adultas a doses subletais de alguns neonicotinoides, dentre eles o tiaclopride (1,25 µg/abelha) e, posteriormente, monitoraram os voos das abelhas, observaram que a taxa de retorno com sucesso foi significativamente menor para as abelhas que foram expostas aos neonicotinoides e, posteriormente, as variáveis que dificultariam o voo das abelhas foram reduzidas, como saliências no terreno, obstáculos e curvas de níveis acentuadas e mesmo assim, menos voos diretos de retorno à colônia foram realizados.

Em abelhas maiores, como caso do gênero *Bombus*, foram observados que os neonicotinoides tiaclopride, tiametoxam e imidaclopride, provocam uma diminuição na oviposição das rainhas, na eclosão das larvas, na taxa de crescimento das colônias e no (BARON *et al.*, 2017; MOMMAERTS *et al.*, 2010; WHITEHORN *et al.*, 2012). No que diz respeito ao presente estudo, as observações mostraram que as operárias de *Trigona fuscipennis* apresentaram comportamento de canibalismo após serem expostas ao agrotóxico. Além disso, as abelhas apresentaram tremores, desorientação, agitação frenética, andar em círculos dentro da gaiola, incapacidade de locomoção, morte na fonte de alimento, muito semelhante ao descrito para *Apis mellifera*. Com exceção do canibalismo, os mesmos comportamentos foram observados para as operárias de *Scaptotrigona aff depilis*, porém em

menor intensidade, quando comparados os comportamentos para as duas espécies do presente estudo. Gurgel (2020), trabalhando com *Scaptotrigona aff depilis*, mas com a formulação comercial do Imidacloprido, observou sintomas de intoxicação semelhantes aos encontrados nesse trabalho em doses subletais como tremores nas pernas e asas, agitação, dificuldades em manter o equilíbrio e prostração.

Essas observações foram feitas inclusive em doses inferiores às letais. No caso de *Apis mellifera*, após a exposição ao neonicotinoides, esses comportamentos estariam relacionados aos tipos de ligações feitas nos cérebros das abelhas pelos receptores pós-sinápticos nicotínicos da acetilcolina (nAChR), esses estão localizados principalmente nos ‘mushroom bodies’, responsáveis pela interação multissensorial (Bicker, 1999). tendo como possíveis resultados hiperexcitação, podendo ocasionar até a morte da abelha (TOMIZAWA; CASIDA, 2005).

É importante levar em consideração a susceptibilidade de abelhas nativas sem ferrão expostas a doses não letais de agrotóxicos, pois estas podem ter a memória e o aprendizado alterados, dificuldades na busca por alimentos, distinção dos teores de açúcares no alimento ofertado, desenvolvimento e sobrevivência de crias e a falta de habilidades no desempenho de atividades vitais à colônia, de forma semelhante ao observado em *Apis mellifera* (GOULSON *et al.*, 2015; PISA *et al.*, 2015). Atualmente, não há estudos abordando os efeitos cumulativos ou efeitos de exposições simultâneas a vários compostos da família dos neonicotinoides sejam eles os já conhecidos, como acetamipride, clotianidina, dinotefuran, imidaclopride, nitenpiram, tiaclopride, tiametoxam, ou os novíssimos cicloxapride, imidaclotiz, paichongding, sulfoxaflor, guadipir e flupiradifurona (PISA *et al.*, 2017; SIMON-DELISO *et al.*, 2015; VAN DER SLUIJS *et al.*, 2015).

#### **b) Tiaclopride (Calypso 480SC®);**

A formulação comercial que tem como princípio ativo o ingrediente tiaclopride, apresentou-se tóxica para as duas espécies de abelhas sem ferrão testadas. Ao se comparar os resultados encontrados de mortalidade por exposição tópica e exposição oral entre as abelhas, levando em consideração a forma de exposição em relação a toxicidade da formulação comercial, observou-se uma diferença de resultados, onde o tiaclopride mostrou-se mais tóxico para a abelha da espécie *Trigona fuscipennis*, quando a via de exposição foi a tópica, enquanto que a forma mais tóxica de exposição para a abelha da espécie *Scaptotrigona aff.*

*depilis* foi observada no teste por via oral. Uma série de fatores pode afetar a mortandade ou resistência das abelhas à ação dos agrotóxicos, como a idade do indivíduo, sensibilidade da espécie, forma de ação do agrotóxico, tipos de citocromos e metabolitos sensibilizados, forma de exposição etc. (SUCHAIL *et al.*, 2001; DECOURTYE *et al.*, 2010; SOARES, 2012; JACOB *et al.*, 2014; MANJON *et al.*, 2018; GURGEL, 2020). De fato, os dados do presente estudo sugerem que as duas espécies apresentam diferentes graus de susceptibilidade tanto ao produto comercial testado quanto à forma de exposição a este, reforçando a necessidade de que estudos sobre os efeitos tóxicos sejam conduzidos com mais espécies e considerem aquelas mais sensíveis.

Realizando teste de toxicidade do princípio ativo tiaclopride, e utilizando a espécie de abelha *Apis mellifera*, Laurino *et al.* (2011) observaram que o tiaclopride, dentre dos neonicotinoides testados, era o menos tóxico para as abelhas, corroborando com Iwasa *et al.*, (2004), EFSA, (2012) e Bommuraj *et al.*, (2021), e que os efeitos subletais eram passageiros após 48 horas de exposição. Embora tenha sido considerado menos tóxico para a espécie de abelha *Apis mellifera*, os efeitos foram tóxicos para as abelhas sem ferrão aqui testadas, tendo em vista que baixas concentrações da formulação comercial contendo tiaclopride foram capazes de matar 50% dos indivíduos do teste. Laurino *et al.*, 2011, não observaram mortalidade de abelhas *Apis mellifera* em 24 horas e 48 horas após iniciado experimento. Contudo, alguns resultados podem ser controversos uma vez que diferentes metodologias podem ter sido utilizadas e variações podem ocorrer de acordo com as normas empregadas em diferentes laboratórios (FAUCON *et al.*, 2005; CRESSWELL, 2011).

Os resultados de exposição tópica e exposição oral de tiametoxam, encontrados no presente trabalho, estão menores que os encontrados por Rortais *et al.* (2005) e Botías *et al.* (2015, 2016) em pólen e no néctar coletados por abelhas melíferas, em situação real de campo, e menores ainda que concentrações de tiaclopride observadas em amostras de pólen na Alemanha (GENERSCH *et al.*, 2010) e na Eslovênia, após o primeiro e o sexto dia da aplicação em um pomar de maçã, mas onde curiosamente não foram observadas concentrações do agrotóxico no pão de abelha (SMODIS SKERL *et al.*, 2009). Goulson (2013) afirma que dentre os neonicotinoides, o tiaclopride apresenta maior rapidez de degradação no ambiente, cerca de 3-73 dias, e que uma vez sendo considerado menos tóxico para as abelhas, vem sendo utilizado indiscriminadamente e, até mesmo sendo recomendado para aplicação em época de florescimento de culturas (GODFRAY *et al.*, 2014; BAYER, 2015). Observações em áreas de plantio com sementes tratadas com tiaclopride, apresentaram uma toxicidade

multigeracional sobre o efeito reprodutivo de *Folsomia cándida* (VAN GESTEL *et al.* 2017). Chan e Raine, (2021) observaram efeitos negativo sobre a reprodução da abelha solitária *Eucera pruinosa* em áreas de produção de *Cucurbita pepo* tratadas com esse neonicotinoide.

Esses resultados alertam para um possível efeito tóxico para as duas espécies aqui testadas (*T. fulcipennis* e *S. depilis*) em áreas de cultivos agrícolas, ou próximas a eles, que utilizam desse agrotóxico devido à alta susceptibilidade dessas abelhas. Os manejos de pulverizações em áreas agrícolas podem intervir na potencialidade toxicológica do tiaclopride. Quando pulverizado conjuntamente com o Triazol ou Butoxido de piperonil, o princípio ativo do tiaclopride pode ter o seu efeito tóxico potencializado (IWASA *et al.*, 2004; SCHMUCK *et al.*, 2003; KRUPKE *et al.*, 2012).

Durante o experimento, foram observados alguns comportamentos das abelhas sob dose subletais para as duas espécies testadas; as observações mostraram que as operárias de *Trigona aff fuscipennis* apresentaram comportamento de canibalismo após algumas horas depois de serem contaminadas com o agrotóxico.

Fischer *et al.* (2014) expuseram abelhas *Apis mellifera* adultas, a doses subletais de tiaclopride (1,25 µg/abelha) e observaram que estas foram comprometidas em desempenho de sucesso para voos diretos de retorno à colônia ou, efeito direto, provocando diminuição na oviposição das rainhas, na eclosão das larvas, na taxa de crescimento das colônias em abelhas maiores (BARON *et al.*, 2017; MOMMAERTS *et al.*, 2010; WHITEHORN *et al.*, 2012). Não obstante, foi demonstrado que a abelhas expostas a tiaclopride e *Nosema ceranea*, dois fatores estressantes, ocasionam um aumento na taxa de mortalidade para as abelhas (VIDAU *et al.* 2011; AUFAUVRE *et al.*, 2012). Liu *et al.* (2020) observou que tiaclopride pode causar certa toxicidade na microbiota do intestino das abelhas melíferas, contudo foram capazes de se recuperar, após 13 dias de expostas ao agrotóxico.

Nos testes de laboratório realizados durante o experimento, não foi observada a presença de vômitos ou mortalidade como descritos por Laurino *et al.* (2011) para a espécie *Apis mellifera*, entretanto, no presente estudo, houve mortalidade de todos os indivíduos no intervalo de 72 horas após o início do experimento para *Trigona aff. fuscipennis*, e 96 horas para *Scaptotrigona aff depilis*. Esse resultado corrobora com Jacob *et al.* (2012) e Del Sarto *et al.* (2014) quando afirmam que essa classe de agrotóxico possa ser mais tóxica para meliponíneos do que para *Apis mellifera*. Os resultados desse estudo fornecem informações que corroboram com Renaud *et al.*, 2018, onde, aconselham a investigação para os efeitos toxicológicos da formulação comercial do tiaclopride a nível de campo. Existem variações

nos valores de dose letal encontradas neste estudo, em comparação a outras pesquisas com neonicotinoides.

Estas variações podem ser atribuídas à influência de fatores como variabilidade genética de cada população de abelhas estudada, mudanças ambientais dos locais de origem das populações, execução da metodologia empregada e diferença na capacidade de desintoxicação de uma colônia para o outro, bem como diferentes formulações comerciais de inseticidas com o mesmo princípio ativo, os quais variam quanto ao tipo e quantidade dos ingredientes inertes (BOVI, 2013; SUCHAIL *et al.*, 2001). Os resultados encontrados evidenciam que doses subletais de tiaclopride apresentam efeitos negativos, DL50, nos proporcionando importantes indagações sobre desafios do uso desse neonicotinoide na agricultura manejada, como já questionado por Tison *et al.*, (2017).

### **c) Agrotóxico**

O presente estudo apresentou valores de concentração para EXPOSIÇÃO TÓPICA e EXPOSIÇÃO ORAL divergentes aos encontrados em outros estudos, talvez, pelo fato de o trabalho estar utilizando, para os testes, a formulação comercial, e não somente o princípio ativo do agrotóxico. A formulação comercial em si, não apresenta só um único ingrediente, ela é a soma do princípio ativo com componentes inertes, adjuvantes e/ou co-formulantes. Esses ingredientes ativos são utilizados para influenciar a absorção estabilidade, além de influenciar a degradação e promover a ativação do princípio ativo, transformando-o em agrotóxico (FOY; PRITCHARD, 1996; MARUTANI; EDIRVEERASINGAM, 2006; KUCHARSKI; SADOWSKI, 2011; TRAVLOS *et al.*, 2017). Ingredientes inertes, suplementar, adjuvantes nas formulações comerciais são frequentemente utilizados para aumentar a eficiência dos ingrediente ativos e podem também, inadvertidamente, potencializar os efeitos toxicológicos em organismo não alvo depois da aplicação (HOLLOWAY *et al.*, 1994; HOLLOWAY, 1998; SURGAN *et al.*, 2010) Muitas vezes esses co-formulantes são também vendidos separadamente, utilizados como agrotóxicos e sob o nome de adjuvantes, que geralmente são adicionados em preparações para pulverizações agrícola (MARKET; MARKETS, 2021). Alguns neonicotinoides possuem em sua formulação substâncias surfactantes que possuem um efeito tóxico para as abelhas (CIARLO *et al.*, 2012, CHEN *et al.*, 2017). Chen e Mullin (2013) observaram exposição desse adjuvante em mel, pólen e cera armazenados nas colmeias.

Klátyik *et al.*, (2017) relata que formulações comerciais podem conter vários aditivos além do ingrediente ativo.

Esses aditivos são caracterizados inertes apenas para o caráter da formulação, podendo essas substâncias apresentar caráter toxicológico como efeitos colaterais sobre organismos não alvos, como é o caso dos surfactantes. Observações realizadas por Fine *et al.* (2017), demonstraram que a exposição por surfactantes pode até mesmo influenciar em uma patologia viral para larvas da abelha melífera. Ignorar essa combinação de ingredientes pode levar a uma má interpretação da real toxicidade da formulação comercial como um todo (MESNAGE; ANTONIOU, 2018). Formulações comerciais e seus ingredientes ativos apresentam diferentes graus de toxicidade, e essas sensibilidades variam entre as espécies e estrutura química da formulação. Takács *et al.* (2017), por exemplo, concluíram que a toxicidade da formulação comercial Apache 50 WG® é 46,5 vezes mais tóxica para *Daphnia magna* que o seu princípio ativo clothianidin, outro neonicotinoide. Por outro lado, os mesmos autores observaram que as formulações comerciais de Calypso 480SC® e Actara 240 SC®, contendo tiaclopride e tiametoxam respectivamente, foram 2 e 3 vezes menos tóxicas para *D. magna*, do que seus ingredientes ativos, resultado totalmente oposto ao observado no presente estudo para *Trigona aff fuscipennis* e *Scaptotrigona aff depilis*.

## 7 CONCLUSÃO

As formulações comerciais de agrotóxicos tendo por ingrediente ativo tiametoxam e tiaclopride se mostraram tóxicas para as espécies de abelhas sem ferrão *Trigona aff fuscipennis* e *Scaptotrigona aff depilis*.

Alguns efeitos subletais, já observados para espécie referência nos testes de toxicidade de agrotóxicos, foram observados nas abelhas sem ferrão *Trigona aff fuscipennis* e *Scaptotrigona aff depilis*, contudo, a *T. fuscipennis*, apresentou um comportamento de canibalismo, comportamento que não foi demonstrado por nenhuma outra espécie quando submetidas ao teste de toxicidade.

O estudo aqui apresentado vai de encontro às premissas de que *Apis mellifera* possa não ser uma boa espécie de referência para avaliar a segurança da ação toxicológica dos agrotóxicos em abelhas. Além disso, demonstra que o uso de uma única espécie como referência geral pode não avaliar os riscos toxicológicos adequadamente, como demonstrados pelas variações dos valores encontrados para mortalidade mostrados no teste de toxicidade em exposição tópico e exposição oral para as duas espécies de meliponíneos e agrotóxicos testados.

As informações geradas por essa pesquisa, demonstram a importância de se rever a metodologia que atualmente é empregada em testes de toxicidade para abelhas, uma vez que a toxicidade dos agrotóxicos testados se mostrou muito maior nos testes com a formulação comercial do que nos estudos com o princípio ativo.

## REFERÊNCIAS

- AIZEN, M. *et al.* Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. **Current Biology** [s. l.], v. 18, p. 1572-1575, 2008.
- AIZEN, M.; HARDER, L. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. **Current Biology**, v. 19, p. 915–918, 2009.
- AHMAD, Z.; JOHANSEN, C. Selective toxicity of carbophenotion and thricloroform to the honey bee and the alfalfa leaf cutting bee. **Environment Entomology**, v. 2, p. 27–30, 1973.
- AKANKSHA S. *et al.* Influence of neonicotinoids on pollinators: A review. **Journal of Apicultural Research**, v. 60:1, p. 19-32, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1825044>.
- ALVES-DOS-SANTOS, I. *et al.* Quando um visitante floral é um polinizador?., **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 2, p. 295-307, 2016.
- ARCE, A. *et al.* Foraging bumblebees acquire a preference for neonicotinoid-treated food with prolonged exposure. **Proc. Biol. Sci.**, v. 285, ed. 1885, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0655>.
- ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 324-334,. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-014-1190-1>.
- AUFAUVRE, J. *et al.* Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. **Scientific reports**, v. 2, 2012.
- BAINES, D. *et al.* Neonicotinoids act like endocrine disrupting chemicals in newly-emerged bees and winter bees. **Scientific Reports**, v. 7 (1), p. 1-18, 2017.
- BARON, G.; RAINE, N.; BROWN, M. General and species-specific impacts of a neonicotinoid insecticide on the ovary development and feeding of wild bumblebee queens. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 284, n. 1854, p. 1-8, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28469019>. DOI:
- BASS, C., DENHOLM, I., WILLIAMSON, M. S., & NAUEN, R. (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 121, 78-87.
- BAYER CROPSCIENCE. Product information for Biscaya OD 240 (in Swedish). 2015. Disponível em: <http://www.cropscience.bayer.se/~media/Bayer%20CropScience/Scandinavia/Sweden/Produkt/Produktsidor%202015/Biscaya%202015.ashx>. Acesso em: 20 Maio 2021.

BELZUNCES, L.; TCHAMITCHIAN, S.; BRUNET, J. Neural effects of insecticides in the honey bee. **Apidologie**, Versailles, v. 43, n. 3, p. 348-370, 2012.

BICKER, G. (1999). Histochemistry of classical neurotransmitters in antennal lobes and mushroom bodies of the honeybee. **Microscopy research and technique**, v. 45, n.3, p. 174-183.

BIDDINGER, D. *et al.* Comparative Toxicities and Synergism of Apple Orchard Pesticides to *Apis mellifera* (L.) and *Osmia cornifrons* (Radoszkowski). **PLoS ONE**, v. 8, ed. 9: e72587, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072587>.

BIDDINGER, D.; RAJOTTE, E. Integrated pest and pollinator management - Adding a new dimension to an accepted paradigm. **Current Opinion Insect Sci.**, v. 10, p. 204–209, 2015.

BIESMEIJER, J. *et al.* Parallel Declines in Pollinators and Insect-pollinated Plants in Britain and the Netherlands. **Science**, 313: 351-354, 2006.

BHATTACHARYYA, M.; ACHARYA, S.; CHAKRABORTY, S. Pollinators unknown: People's perception of native bees in an agrarian district of West Bengal, India, and its implication in conservation. **Tropical Conservation Science**, v. 10,. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1177/1940082917725440>.

BLACQUIÈRE, T. *et al.* Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 973–992, 2012.

BRITTAIN, C.; POTTS, S. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. **Basic and Applied Ecology**, v. 12, p. 321–331, 2011.

BOMMURAJ, V. *et al.* Concentration and time-dependent toxicity of commonly encountered pesticides and pesticide mixtures to honeybees (*Apis mellifera* L.), **Chemosphere**, v. 266, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128974>.

BOTÍAS, C. *et al.* Neonicotinoid residues in wildflowers, a potential route of chronic exposure for bees. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 21, p. 12731-12740, 2015. Disponível em: <http://pollinatorstewardship.org/wp-content/uploads/2016/01/2015-Botias-et-al.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03459>.

BOTÍAS, C. *et al.* Contamination of wild plants near neonicotinoid seed treated crops, and implications for non-target insects. **Science of the Total Environment**, v. 566-567, n. 6, p. 269-278, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716309950>. Acesso em: DOI: <https://doi.org/10.1016/l.scitotenv.2016.05.065>.

BOVI, T. **Toxicidade de inseticidas para abelhas *Apis mellifera***. 2013. 69f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Câmpus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013.

BRITAIN, C.; POTTS, S. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. **Basic and Applied Ecology**. v.12, p. 321–331,. 2011.

BUCHMANN, S.; NABHAN, G. **The Forgotten Pollinators**. Island Press; 1997.  
BYRNE, F. *et al.* Determination of exposure levels of honey bees foraging on flowers of mature citrus trees previously treated with imidacloprid. **Pest Management Science**, v. 70, p. 470-482, 2014.

CAMARGO, J.; MOURE, J. Notas sobre os Meliponinae (Hymenoptera, Apidae) colecionados por Filippo Silvestri na bacia do Rio da Prata. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 32, ed. 2, p. 293-314, 1988.

CAMPOS, J; ANDRADE, C. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 232- 236. 2001.

CARVALHO, J. *et al.* **Análise de probit aplicada a bioensaios com insetos**. Colatina: IFES, Brasil, 2017. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/317994149\\_analise\\_de\\_probit\\_aplicada\\_a\\_bioensaios\\_com\\_insetos](https://www.researchgate.net/publication/317994149_analise_de_probit_aplicada_a_bioensaios_com_insetos). Acesso em: 10 fev. 2021

CATAE, A. *et al.* Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: apidae). **Microscopy Research and Technique**, v. 77 (4), p. 274-281, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jemt.22339>.

CRESWELL, J. A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. **Ecotoxicology**, v. 20, p. 149–157, 2011.

CRESSWELL, J.; DESNEUX, N.; VAN ENGELSDORP, D. Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: an evaluation by Hill's epidemiological criteria. **Pest Management Science**, v. 6, p. 819–827, 2012.

CORTOPASSI-LAURINO, M. *et al.* Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 27, p. 275-292, 2006.

COX-FOSTER, D. *et al.* A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. **Science**, v. 80, n. 318, p. 283-287, 2007. DOI:  
<https://doi.org/10.1126/science.1146498>.

CRUZ, D.; CAMPOS, L. Polinização por abelhas em cultivos protegidos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 15, n. 1-4, p. 5-10, 2009.

DANFORTH, B.; MINCKLEY, R.; NEFF, J. **The Solitary Bees – Biology, Evolution, Conservation**. Princeton: Princeton University Press, 2019.

de Oliveira Jacob, C. R., Zanardi, O. Z., Malaquias, J. B., Silva, C. A. S., & Yamamoto, P. T. (2019). The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille)(Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere*, 224, 65-70.

DECOURTYE, A.; LACASSIE, E.; PHAM-DELEGUE, M. Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. **Pest Management Science**, v. 59, p. 269–278, 2003.

DECOURTYE, A. *et al.* Sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 48, n. 2, p. 242-250, 2005.

DECOURTYE, A. *et al.* Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, NY, v. 48, n. 2, p. 242-250, 2005.

DECOURTYE A.; DEVILLERS J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees, *In*: THANY S. H., (Org) **Insect nicotinic acetylcholine receptors: advances in experimental medicine and biology**. New York, USA: Springer Science + Business Media, LLC. p. 85-95. 2010.

DECOURTYE, A.; HENRY, M.; DESNEUX, N. Overhaul pesticide testing on bees. **Nature**, v. 497, p. 188,. 2013.

DEL SARTO, M. **Toxicidade de inseticidas para as abelhas *Melipona quadrifasciata* e *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. 64f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

DEL SARTO, M. *et al.* Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, Springer-Verlag, France v. 45, p. 626–636, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0281-6>, 2014.

DIVELY, G.; HOOKS, C. Use patterns of neonicotinoid insecticides on cucurbit crops and their potential exposure to honey bees. **Progress Report**. Strategic Agricultural Initiative Grants Program. EPA Region 3. 2009. Disponível em: [http://entomology.umd.edu/uploads/4/4/1/3/44130801/2009\\_report\\_residue\\_results.pdf](http://entomology.umd.edu/uploads/4/4/1/3/44130801/2009_report_residue_results.pdf). Acesso em: 02 jun. 2019

DIVELY, G.; KAMEL, A. Insecticide residues in pollen and nectar of a cucurbit crop and their potential exposure to pollinators. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 4449–4456, 2012.

DOMINGUES, C. *et al.* Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotic system of the Africanized honeybee. **Chemosphere**, v. 186, p. 994-1005, 2017.

DORNELES, A.; ROSA, A.; BLOCHTEIN, B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. **Apidologie**, v. 48, p. 612–620, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0502-x>.

DOUBLET, V. *et al.* Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honeybee mortality across the life cycle. **Environmental Microbiology**, v. 17, ed. 4, p. 969-983, 2015.

EARDLEY, C.; KWAPONG, P. Taxonomy as a tool for conservation of African stingless bees and their honey. *In: Pot-Honey: A Legacy of Stingless Bees* (eds P Vit, S Pedro & DW Roubik), p. 261–268. Springer, New York, USA, 2013.

EILERS, E. *et al.* Contribution of pollinator mediated crops to nutrients in the human food supply. **PLoS ONE**, v. 6:e21363,. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021363>.

ELBERT, A. *et al.* Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *In: STEPHEN O. DUKE. (Org) Pest Management Science*. Reino Unido: SOCI. v. 64, p. 1099–1105, 2008.

ELLIS, C. *et al.* Neonicotinoid Insecticide Thiacloprid Impacts upon Bumblebee Colony Development under Field Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 51, p. 1727-1732, 2017.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Statement on the findings in recent studies investigating sub-lethal effects in bees of some neonicotinoids in consideration of the uses currently authorised in Europe. **EFSA Journal**, v. 10, p. 2752, 2012.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Peer review of the pesticide risk assessment for the active substance imidacloprid in light of confirmatory data submitted. **European Food Safety Authority Journal**. v.14, p. e04607, 2016.

FAHRBACH, S. Structure of the mushroom bodies of the insect brain. **Ann Rev Entomol**, v. 51, p. 209-232, 2006.

FAHRBACH, S. *et al.* Experience-expectant plasticity in the mushroom bodies of the honeybee. **Lean Memory**, v. 5, p. 115–123, 1998.

FAO. **Food and Agriculture Organization of The United Nations Statistics**. Disponível em: <http://www.faostat.fao.org>. Acesso em: 10 maio 2018.

FAROOQUI, T. A potential link among amines-based pesticides, learning and memory and colony collapse disorder: A unique hypothesis. **Neurochemistry International**, v. 62, p.122-136, 2012.

FERREIRA, M.; MANENTE-BALESTIERI, F.; BALESTIERI, J. Pólen coletado por *Scaptotrigona depilis* (Moure) (Hymenoptera, Meliponini), na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, p. 258–262, 2010.

FISCHER, J. *et al.* Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees. **PLoS One**, v. 9, n. 3, e91364, p. 1-10. 2014. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0091364>. Acesso em: 12 maio 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0091364.

FREE, J. *Insect Pollination of Crops*. **Academic Press**, London, UK, 1993.

FREITAS, B. *et al.* Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 332-346, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido/2009012>.

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

FRIESE, H. **Neue arten der Bienengattungen Melipona III.** Und Trigona Jur. Természeträjzi Füzetek. v. 23, ed. 11, p. 381-394, 1900.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. Disponível em: <https://www.fao.org/statistics/en/>. Acesso em: 10 mai 2018.

GALLAI, N. *et al.* Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *In*: HOWARTH R. B. (Org) **Ecological Economics**. v. 68, p. 810–821, 2009.

GALLO, M. *et al.* General principles of Toxicology. *In*: Casarett and Doull's: Toxicology - The Basic Science of Poisons (ed. Klaassen, C.), p. 1–107, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1036/0071470514>.

GARIBALDI, L. Wild pollinators enhance fruit set of crops regard-less of honey bee abundance. **Science**, v. 339, p. 1608–1611, 2013.

GENERSCH E. *et al.* The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. **Apidologie**, v. 41, p. 332-352, 2010.

GIRI, G. *et al.* Effect of thiamethoxam on foraging activity and mortality of *Apis mellifera* (L.). **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 2, p. 215-217, 2018.

GOULSON, D. An overview of the environmental risks poses by neonicotinoid insecticides. **Journal of applied Ecology**, v. 50, p. 977-987, 2013.

GREGORC, A. *et al.* Effects of *Nosema ceranae* and Thiametoxam in *Apis melífera*: A comparative study in Africanized and Carniolan honeybees. **Chemosphere**, v. 147, p. 328-336, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.030>.

GU, Y. *et al.* Reproductive effects of two neonicotinoid insecticides on mouse sperm function and early embryonic development in vitro. **PloS One**, v. 8, n. 7, p. e70112, 2013.

GUGULETHU, T.; CHEMURA, A.; MUSUNDIRE, R. Farmers' Knowledge and Attitudes Toward Pollination and Bees in a Maize-Producing Region of Zimbabwe: Implications for Pollinator Conservation. **Tropical Conservation Science**, v. 13, p. 1–13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/1940082920918534>

GUAZELLI, M. J. Brasil: o maior consumidor de agrotóxicos. **Portal Ecodebate**. Publicado em 09/06/2009. Entrevista especial concedida ao Portal Ecodebate. Disponível em: <http://www.ecodebate.com.br/2009/06/09/brasil-o-maior-consumidor-de-agrotóxicos-entrevista-especial-com-maria-jose-guazzelli/>. Acesso em: 7 fev. 2011.

HARDSTONE, M.; SCOTT, J. Is *Apis mellifera* more sensitive to insecticides than other insects? In: STEPHEN O. DUKE. (Org) **Pest Management Science**, Reino Unido, p. 1171–1180, 2010.

HALLMANN, C. *et al.* More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. **PLoS ONE**, v. 12, ed. 10: e0185809, (2017). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809>

HEARD, T. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 183–206, 1999.

HENRY, M. *et al.* A common pesticide decreases foraging success and survival in honeybees. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 348-350, 2012a. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/336/6079/348.full>. Acesso em: DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1215039>.

HENRY, M. *et al.* A. Response to comment on “A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees”. **Science**, v. 337, n. 6101, p. 1453. 2012b. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/sci/337/6101/1453.3.full.pdf>. Acesso em: 11 maio 2018 DOI:<https://doi.org/10.1126/science.1224930>.

HILDMANN, F. *et al.* Pesticide residues in chicken eggs - A sample preparation methodology for analysis by gas and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1403, p. 1-20, 2015.

IMPERATRIZ-FONSECA V.; NUNES-SILVA P. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o código florestal brasileiro. **Biota Neotropica**, v. 10, p. 59–62, 2010.

IPBES (2016). **The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production**. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3402856>

IWASA, T. *et al.* Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honeybee, *Apis mellifera*. In: CHAUHAN B. *et al.* (Org) **Crop Protection**, v. 23, p. 371–378, 2004.

JACOB, C. *et al.* Acute Toxicity of Fipronil to the Stingless Bee *Scaptotrigona postica* Latreille. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 90, ed. 1, p. 69-72, 2012.

- JACOB, C. *et al.* Impact of Fipronil on the Mushroom Bodies of the Stingless Bee *Scaptorigona postica*. **Society of Chemical Industry**), v. 71, ed. 1, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.3776>.
- JAVOREK, S.; Mackenzie, K.; VANDER, K. Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 95, p. 345–35, 2002.
- JESCHKE, P. *et al.* Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 2897–2908, 2011.
- JIANG, J. *et al.* Concentrations of 21 imidacloprid and thiamethoxam in pollen, nectar and leaves from seed-dressed cotton crops and 22 their potential risk to honeybees (*Apis mellifera* L.). **Chemosphere**, v. 201, p. 159-167, 2018.
- JIMENEZ, D.; CURE, J. Efecto letal agudo de los insecticidas en formulación comercial Imidacloprid, Spinosad y Thiocyclam hidrogenoxalato en obreras *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae). **Revista de Biología Tropical**, v. 64, 2016.
- KAKAMAND, F.; MAHMOUD, T.; AMIN A. The role of three insecticides in disturbance the midgut tissue in honey bee *Apis mellifera* L. workers. **J Dohuk Univ**, v. 11, p. 144– 151, 2008.
- KERKUT, G.; GILBERT, L. Mobbs PG, Brain structure. *In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. Oxford: Pergamon Press Ltda, p.133-170, 1985.
- KERR, W. *et al.* **Abelha Uruçu**: Biologia manejo e conservação. Belo Horizonte: Acangaú, 1996.
- KEVAN, P.; MENZEL, R. The plight of pollination and the interface of neurobiology, ecology and food security. **The Environmentalist**, v. 32, p. 300-310, 2012. DOI: 10.1007 / s10669-012-9394-5.
- KLEIN, A. *et al.* Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society**, v. 274, p. 303–313, 2007.
- KOMISCHKE, B. *et al.*, Partial unilateral lesions of the mushroom bodies affect olfactory learning in honeybees *Apis mellifera* L. **Eur J Neurosci**, v. 21, p. 477–485, 2005.
- KRUPKE, C. *et al.* Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, e29268, p. 1-8, jan. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0029268&representation=PDF>. Acesso em: 02 abril. 2019 DOI: 10.1371/journal.pone.0091364.
- LAURINO D. *et al.* Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees laboratory tests. **Bull Insectol**, v. 64, p. 107–113, 2011.

LAUTENBACH, S. *et al.* Spatial and temporal trends of global pollination benefits. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p.e35954, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035954>.

LAYCOCK, I. *et al.* Effects of the neonicotinoid pesticide thiamethoxam at field-realistic levels on microcolonies of *Bombus terrestris* worker bumble bees. **Ecotoxicology Environment Safety**, v. 100, p. 153-158, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.10.027>.

LEWIS, K.; TZILIVAKIS, J.; WARNER, D.; GREEN, A. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 22, ed. 4, p. 1050-1064, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>.

LIMA, M.; ROCHA, S. **Efeitos toxicológicos sobre as abelhas silvestres no Brasil**. Brasília: IBAMA, 2012.

LIU, Z. *et al.* Anicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* (brown planthopper). **Proceedings of the National Academy of Sciences**. U. S. A. v. 102, n. 24, p. 8420–8425, 2005.

LOURENÇO, C. *et al.* Oral toxicity of fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreilli, 1811). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 89: 921–924, 2012.

LÓPEZ-GUILLÉN, G. Primer reporte de *Trigona* spp. atacando a *Garcinia mangostana* en México. **Entomología mexicana**, v. 7, p. 172-175, 2020. ISSN: 2448-475X. Disponível em: <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2020/EA/Em%20EA%20172-175.pdf>. Acesso em: 10 maio 2018

LUNDIN, O. *et al.* Neonicotinoid Insecticides and Their Impacts on Bees: A Systematic Review of Research Approaches and Identification of Knowledge Gaps. **Plos One**. v. 10, p. 1–20, 2015.

MAIA, U. *et al.* Meliponicultura no Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 4, p. 327-333, 2015.

MADUREIRA, T. *et al.* The toxicity potential of pharmaceuticals found in the Douro River estuary (Portugal): evaluation of impacts on fish liver, by histopathology, stereology, vitellogenin and CYP1A immunohistochemistry, after sub-acute exposures of the zebrafish model. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, n. 1, p. 34-45, 2012.

MAYER, D.; KOVACS, G.; LUNDEN, J. Field and laboratory tests on the effects of cyhalothrin on adults of *Apis mellifera*, *Megachile rotundata* and *Nomia melanderi*. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, p. 33-37, 1998.

MAYER, D.; LUNDEN, J. Field and laboratory tests of the effects of fipronil on adult female bees of *Apis mellifera*, *Megachile rotundata* and *Nomia melanderi*. **Journal of Apicultural Research**, v. 38, p. 191-197, 1999.

MATEUS, S. *et al.* Locais de Nidificação das Abelhas Nativas sem Ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) do Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina - MT. **Revista Mensagem Doce**, APACAME, n. 100, p. 5, 2009.

MATSUDA K, SHIMOMURA M, IHARA M, AKAMATSU M, SATTELLE DB. 2005. Neonicotinoids show selective and diverse actions on their nicotinic receptor targets: Electrophysiology, molecular biology, and receptor modeling studies. **Biosci Biotechnol Biochem.** n. 69: p1442– 1452.

MEDRZYCKI, P. *et al.* 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.

MELLO, I.; SILVEIRA, W. Resíduos de agrotóxicos em produtos de origem animal. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n. 2, p. 94-104, 2012.

MEDRZYCKI, P. *et al.* 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.

MICHENER, C. **The social behavior of the bees**. Massachusetts: Harvard University Press, 1974.

MICHENER, C. **The bees of the world**. Vol. 1, Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2000.

MICHENER, C. **The Bees of the World**. Vol. 2, Baltimore: Johns Hopkins University Press, Baltimore, 2007.

MOREIRA, A. *et al.* The vibrational properties of the bee-killer imidacloprid insecticide: A molecular description. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 185, p. 245-255, 2017.

MOREIRA, D. *et al.* Toxicity and effects of the neonicotinoid thiamethoxam on *Scaptotrigona bipunctata* lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae). **Toxicology**, v. 33, p. 463-475, 2018.

MONTEIRO, W. Meliponicultura: Tripla Visita Técnica. **Revista Mensagem Doce**, APACAME, n. 45, 1998. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/msgdoce.htm>. Acesso em: 20 maio 2018

MORRISSEY, C. *et al.* Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. **Environ Int.**, v. 74, p. 291-303, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.024>.

MOMMAERTS, V. *et al.* Risk assessment for side-effects of neonicotinoids against bumblebees with and without impairing foraging behavior. **Ecotoxicology**, v. 19, p. 207–215, 2010.

MUNDY-HEISZ, K.; PROSSER, R.; RAINE, N. Acute oral toxicity and risks of exposure to the neonicotinoid thiamethoxam, and other classes of systemic insecticide, for the Common

Eastern Bumblebee (*Bombus impatiens*). **bioRxiv**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.01.27.921510>.

NAUEN R. *et al.* Thiamethoxam is neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 76, p. 55–69, 2003.

NAUEN, R., JESCHKE, P., & COPPING, L. (2008). In focus: neonicotinoid insecticides editorial. **Pest Management Science**, v. 64, n. 11, p. 1081-1081.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997.

NOGUEIRA-NETO, P. **A criação de abelhas sem ferrão**. São Paulo: Tecnapis, 1970.

NUNES, T. *et al.* Emergency queens in *Tetragonula carbonária* (Smith, 1854) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Austral Entomology**, v. 54, ed. 2, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/aen.12104>.

OERKE, E. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**, v. 144, p. 31–43, 2006.

OECD. GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, **EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS**. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test, n. 214, 1998a. 7p.

OECD. GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, **EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS**. Honeybees, Acute Oral Toxicity Test, n. 213, 1998b. 8p.

OECD (2017), Test No. 245: **Honey Bee (*Apis Mellifera L.*), Chronic Oral Toxicity Test (10-Day Feeding)**, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264284081-en>.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How Many Flowering Plants are Pollinated by Animals? **Oikos**, v. 120, ed. 3, p. 321-326, 2011.

OLIVEIRA, F. *et al.* **Guia Ilustrado das Abelhas "Sem-Ferrão" das Reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (IDSMA), 2013.

OLIVEIRA, F. *et al.* Pesticides residues in the *Prochilodus costatus* (Valenciennes, 1850) fish caught in the Sao Francisco River, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes**, v. 50, n. 6, p. 398-405, 2015.

OLIVEIRA, R.; REDAELLI, L.; SANT'ANA, J. Responses of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) to pesticides used in organic fruit production. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 38, n. 2, p. 238-242, 2012.

OLIVEIRA, F. **Resíduos de agrotóxicos em leite cru refrigerado: validação da ampliação do escopo de método por LC-MS/MS e análise multivariada de fatores que influenciam sua ocorrência no estado de Minas Gerais**. 2016. 139f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

OLIVEIRA, R. *et al.* Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v. 29, p. 1122-1133, 2014.

OLIVEIRA, R. *et al.* Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the Africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Pest Management Science**, v. 29, p. 1122-1133, 2013. PACÍFICO-DA-SILVA, I. *et al.* Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 703–715, 2015.

PEDRO, S. The stingless bee fauna in Brazil (hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 61, 2014. DOI: <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.348-354>.

PEREIRA, M. **Tiametoxam em plantas de cana-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro: parâmetros de desenvolvimento e aspectos bioquímicos**. 2010. 125f. Tese (Doutorado em Agricultura) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

PEREIRA, A. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas**. Tese (Doutorado em Biociências) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

PINHEIRO, M. *et al.* Polinização por abelhas. In: RECH, A.R *et al.* **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014, p. 205-233.

PISA, L. *et al.* Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**. n. 22, p. 68–102,. 2015. PHAN, N. *et al.* A new ingestion bioassay protocol for assessing pesticide toxicity to the adult Japanese orchard bee (*Osmia cornifrons*). **Scientific Reports**, v. 10, n. 9517, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66118-2>

PIOVESAN, B., PADILHA, A. C., MORAIS, M. C., BOTTON, M., GRÜTZMACHER, A. D., & ZOTTI, M. J. (2020). Effects of insecticides used in strawberries on stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca fiebrigi* (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 34, p. 42472-42480.

PIRES, CARMEN SÍLVIA SOARES. **Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos** / Carmen Sílvia Soares Pires, Karoline Ribeiro de Sá Torezani. – Brasília: Ibama; 2018. 84 p.; 21 x 29,7 cm ISBN: 978-85-7300-386-4

PORRINI C. *et al.* The Status of Honey Bee Health in Italy: Results from the Nationwide Bee Monitoring Network. **PLoS ONE**, v. 11(5): e0155411, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155411>.

POSEY, D. Keeping of stingless bees by the Kayapó Indians of Brazil. **Journal of Ethnobiology**, v. 3, ed. 1, p. 63-73, 1983.

POTTS, S. *et al.* Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, p. 345-353, 2010.

POTTS, S. *et al.* Safeguarding pollinators and their values to human well being. **Nature**, n. 540, p. 220–229, 2016.

QUEIROZ, S. **Tratado de toxicologia ocupacional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Biblioteca 24 Horas, 2015.

RAFAEL, J. Prefacio. *In*: J.A. Rafael (Ed.), **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia** (p. 8-14). Ribeirão Preto: Holos, 2012.

REINE, N.; GILL, R. Tasteless pesticides affect bees in the field. **Nature**, v. 521 ed. 7550, p. 38-39, 2015.

RECH, A.; BERGAMO, P.; FIGUEIREDO, R. Polinização abiótica. *In*: RECH, A.R *et al.* **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014, p. 183-204.

ROSA, A. **Efeitos da exposição de *Bombus terrestris audax*, *Apis mellifera carnica* e *Scaptotrigona bipunctata* ao neonicotinóide tiametoxam e uso de *Scaptotrigona aff depilis* como bioindicador**. 2014. 143f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2014. DOI: <https://doi.org/10.11606/T.59.2014.tde-31082014-184702>.

ROSA, A. *et al.* Consumption of the neonicotinoid thiamethoxam during the larval stage affects the survival and development of the stingless bee, *Scaptotrigona aff depilis*. **Apidologie**, v. 47, p. 729-738, 2016.

ROSSI, C. *et al.* Brain Morphophysiology of Africanized Bee *Apis mellifera* Exposed to Sublethal Doses of Imidacloprid. **Archives of Environmental Contamination Toxicology, New Yourk.**, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00244-013-9897-1>.

ROSSI, E. *et al.* **Abelhas & Agrotóxicos: Compilação sobre as evidências científicas dos impactos dos agrotóxicos sobre as abelhas - Petição perante a Relatoria DESCA da Comissão Interamericana de Direitos Humanos.** (Em português), may. 2020.

ROTAIS, A. *et al.* Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie**, v. 36, p. 71-83, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2004071>.

ROUBIK, D. **Ecology and natural history of tropical bees**. New York: Cambridge Univ. Press., 1989.

ROUBIK, D. Stingless bee nesting biology. **Apidologie**, v. 37, p. 124-143, 2006.

SANCHEZ – BAYO, F. *et al.* Are the bees liked to pesticides? – A brief review. **Environment International**, v. 89–90, p. 7–11, 2016.

SANTOS, J.; CARNEIRO, L.; MARTINS, C. Are native nectar robbers against the alien? Effects of floral larceny on the reproductive success of the invasive yellow bells (*Tecoma stans*, Bignoniaceae). **Acta Oecologica**, v. 105, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2020.103547>.

SANTOS, F. *et al.* Toxicity of Insecticides in *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae), a New Strawberry Pest in Brazil under Laboratory Conditions. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/334782369\\_Toxicity\\_of\\_Insecticides\\_in\\_Duponchelia\\_fovealis\\_Zeller\\_Lepidoptera\\_Crambidae\\_a\\_New\\_Strawberry\\_Pest\\_in\\_Brazil\\_under\\_Laboratory\\_Conditions](https://www.researchgate.net/publication/334782369_Toxicity_of_Insecticides_in_Duponchelia_fovealis_Zeller_Lepidoptera_Crambidae_a_New_Strawberry_Pest_in_Brazil_under_Laboratory_Conditions). Acesso em: 02 feb. 2021.

SAMSON-ROBERT, O.; LABRIE, G.; CHANGNON, M.; FOURNIER, V. Planting of neonicotinoid-coated corn raises honey bee mortality and sets back colony development. **PeerJ**, v. 5, p. 1-24, 2017.

SIDNEI, M. *et al.* Locais de Nidificação das Abelhas Nativas sem Ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) do Parque Municipal do Bacaba, Nova Xavantina - MT. **Revista Mensagem Doce**, APACAME. v. 100, p. 60-62, 2009.

SILVA, I. *et al.* Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 703-715, 2015. Disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/s13592-015-0360-3>. Acesso em: 20 feb. 2021 DOI: <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0360-3>.

SILVEIRA, F.; MELO, G.; ALMEIDA, E. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte. Min. Meio Ambiente/Fund. Araraucária, 2002.

SOARES, Hellen. **Avaliação dos Efeitos do Inseticida Imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, apidae, Meliponini)**. 2012. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

SOUZA, E. **Padrão de distribuição temporal de *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) em um cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) de ciclo indeterminado e toxicidade de inseticidas para tratamento de sementes em abelhas adultas**. 2019. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2019.

SOUZA, E. *et al.* Pollen Toxicity from Seed-Treated Cotton on Bees and Pollen Collection Capacity. **Journal of Agricultural Science**, v. 9 (11), p. 1-8, 2017.

SOUZA, E. *et al.* Toxicity of Insecticide-Contaminated Soil Used in the Treatment of Cotton Seeds to Bees. **Journal of Agricultural Science**, v. 10 (10), p. 189-196, 2018.

SCHUMUCK, R. *et al.* Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. **Pest Management Science**, v. 57, p. 225–238, 2001.

SLAA, E. *et al.* “Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives,” **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 293–315, 2006.

SLUIJS, V. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion Environmental Sustainability**, v. 5, p. 293–305, 2013.

SMODIŠ, I. et al. Residues of Pesticides in Honeybee (*Apis mellifera carnica*) Bee Bread and in Pollen Loads from Treated Apple Orchards. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 83, p. 374-377, 2009.

STEWART, S. et al. Potential exposure of pollinators to 18 neonicotinoid insecticides from the use of insecticide seed treatments in the mid-southern 19 United States. **Environment Science Technology**, v. 48, p. 9762–9769, 2014.

STUCHI, A. **Toxicidade e expressão gênica em abelhas do gênero *Tetragonisca* após a exposição com agrotóxicos**. 2009. 120f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual De Maringá, 2009.

STOKSTAD, E. European Union expands ban of three neonicotinoid pesticides. **Science**, v. 361, n. 6397. 2018. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/04/europeanunion-expands-ban-three-neonicotinoid-pesticides>. Acesso em: 02 feb. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aau0152>

STONER, K.; EITZER, B. Movement of soil-applied imidacloprid and thiamethoxam into nectar and pollen of squash (*Cucurbita pepo*). **PLoS One**, v. 7: e39114, 2012.

SUCHAIL, S.; GUEZ, D.; BELZUNCES, L. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Pensacola, v.19, n. 7, p.1901-1905, 2000.

SUCHAIL, S.; GUEZ, D.; BELZUNCES, L. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Pensacola, v. 20, n. 11, p. 2482-2486, 2001.

SUPRATIM, L. et al. Exploring the importance of foral resources and functional trait compatibility for maintaining bee fauna in tropical agricultural landscapes. **Journal of Insect Conservation**, v. 24, p. 431–443, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10841-020-00225-3>.

TAVARES, D. et al. In vitro effects of Thiametoxam on Larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 135, p. 370-378, 2015.

TILMAN, D. et al. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, v. 418, p. 671-677, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature01014>.

TOSI, C. et al. A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. **Science of the Total Environment**, v. 615, p. 208-218, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.226>.

THANY, S. Thiamethoxam, a poor agonist of nicotinic acetylcholine receptors expressed on isolated cell bodies, acts as a full agonist at cockroach cercal afferent/giant interneuron synapses. **Neuropharmacology**, v. 60, p. 587- 592, 2011.

- VALDOVINOS-NÚÑEZ, G. *et al.* Comparative toxicity of pesticides to stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, p. 1737-1742, 2009. DOI: 10.1603/029.102.0502.
- VAN GESTEL, C. *et al.* Multigeneration toxicity of imidacloprid and thiacloprid to *Folsomia candida*. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 3, p. 320-328, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-017-1765-8>.
- VAN GESTEL, C. *et al.* Soil ecotoxicology: state of the art and future directions. **Zookeys**, v. 176, p. 275-296, mar. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.3897/zookeys.176.2275>.
- VAN LEXMOND, M. *et al.* Worldwide integrated assessment on systemic pesticides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 1–4, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3220-1>.
- VERGARA, C.; VILLA, A.; NATES, G. Nidificação de meliponinos (Hymenoptera: Apidae) de la Región Central de Colombia. **Revista Biología Tropical**, v. 34, ed. 2, p. 181-184, 1986.
- VIDAU, C. *et al.* Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. **PLoS One**, 6:e21550, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021550>.
- VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2012.
- WANG, K. *et al.* Biological response of earthworm, *Eisenia fetida*, to five neonicotinoid insecticides. **Chemosphere**, v. 132, p. 120–126, 2015.
- WANG, Y. *et al.* Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia fetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 79, p. 122–128, 2012.
- WINTERMANTEL, D. *et al.* Neonicotinoid-induced mortality risk for bees foraging on oilseed rape nectar persists despite EU moratorium. *Science of The Total Environment*, v. 704, p. 135–400, fev. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135400>.
- WHITEHORN, P. *et al.* Neonicotinoid pesticide reduces bumblebee colony growth and queen production. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 351-352, 2012. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/content/336/6079/351>. Acesso em 02 fev. 2021: DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1215025>.
- XIAO, J. *et al.* Analysis of honey bee exposure to multiple pesticide residues in the hive environment. **Science of The Total Environment**, v. 805, jan. 2022, 150292, ISSN 0048-9697, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150292>.
- YAMAMOTO, D.; AKATSU, I.; SOARES, A. Quantificação da produção do mel de *Scaptotrigona aff depilis* (Hymenoptera, Apidae, Apinae) do município de Luiz Antônio, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, Supplement 1, p. 89-93, nov. 2007.

YASUDA, M. et al. Insecticide Susceptibility in Asian Honey Bees (*Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae)) and Implications for Wild Honey Bees in Asia. *Journal of Economic Entomology*, v. 110, n. 2, p. 447–452, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/tox032>

YUE, M. et al. *Apis cerana* Is Less Sensitive to Most Neonicotinoids, Despite of Their Smaller Body Mass. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 1, p. 39–42, 19. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/tox342>.

YANG, C. et al. Impaired olfactory associative behavior of honeybee workers due to contamination of imidacloprid in the larval stage. **Plos One**, v. 7 e49472, nov. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049472>

ZHIYONG, L.; SHOUMING, L.; HONGHONG, L. Interactions between sublethal doses of thiamethoxam and *Nosema ceranae* in the honey bee, *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 60, p. 717-725, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1880760>.

Zhu, L., Qi, S., Xue, X., Niu, X., & Wu, L. (2020). Nitenpyram disturbs gut microbiota and influences metabolic homeostasis and immunity in honey bee (*Apis mellifera* L.). **Environmental Pollution**, 258, 113671.