

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS DOIS VIZINHOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOSSISTEMAS

RAIZA ABATI

**AGROTÓXICOS E ABELHAS: CIENCIOMETRIA E ANÁLISE DE
EFEITO RESIDUAL DE IMIDACLOPRIDE E BETA-CIFLUTRINA EM
CANOLA *Brassica napus* L.**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2021

RAIZA ABATI

**AGROTÓXICOS E ABELHAS: CIENCIOMETRIA E ANÁLISE DE
EFEITO RESIDUAL DE IMIDACLOPRIDE E BETA-CIFLUTRINA EM
CANOLA *Brassica napus* L.**

**PESTICIDES AND BEES: SCIENTOMETRY AND RESIDUAL EFFECT
ANALYSIS OF IMIDACLOPRID AND BETA-CYCLUTRINE IN CANOLA
Brassica napus L.**

Trabalho de Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Michele Potrich
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Fernando Adami

DOIS VIZINHOS

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos



RAIZA ABATI

AGROTÓXICOS E ABELHAS: CIENCIOMETRIA E ANÁLISE DE EFEITO RESIDUAL DE IMIDACLOPRIDE E BETA-CIFLUTRINA EM CANOLA *BRASSICA NAPUS L.*

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Agroecossistemas.

Data de aprovação: 25 de Fevereiro de 2021

Prof.a Michele Potrich, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Daniel Ricardo Sosa Gomez, Doutorado - Embrapa

Prof.a Fabiana Martins Costa Maia, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 30/03/2021.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e pela força para superar os desafios.

Aos meus pais, pelo exemplo e pela educação recebida, por estarem ao meu lado em todos os momentos, confiando e acreditando em mim, me incentivando e dando ânimo para continuar.

Aos meus irmãos, por todo o companheirismo durante a vida, especialmente minha irmã Roberta por estar sempre comigo, apoiando, incentivando e fortalecendo.

À minha orientadora Michele Potrich por todos os ensinamentos, os quais possibilitaram a produção de conhecimento científico, pelo exemplo como pessoa e profissional, por todo incentivo, paciência, confiança e também pela amizade.

Ao meu coorientador Paulo F. Adami pelo conhecimento repassado, auxílio e suporte. A professora Fabiana M. Costa-Maia pelos ensinamentos e por dispor o apiário experimental para realização dos experimentos.

Aos meus amigos Fernanda e Rodrigo, os quais me ensinaram muito desde que entrei no laboratório, sempre pacientes, presentes e dispostos. Especialmente pela amizade, pelo apoio, pelos conselhos e pelas boas risadas.

As minhas amigas Amanda, Gabriela Libardoni e Gabriela Osowski pela amizade, pelo companheirismo, por toda ajuda e por todos os momentos de alegria e descontração.

As minhas amigas de infância Ana Julia, Eloísa, Aline e Yara, que mesmo com a distância e com o passar dos anos, estão presentes na minha vida. Ao meu bom e velho amigo Cauan, pela amizade de sempre. Ao meu amigo Eduardo pelas conversas e pelo apoio.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico e também da UNEPE-Apicultura por toda ajuda durante os experimentos.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos pela disponibilização da infraestrutura e laboratórios para a realização deste trabalho.

Ao CNPq (processo 370492/2019-6) e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela concessão de bolsa de estudos.

Muito obrigada!

RESUMO

ABATI, Raiza. **AGROTÓXICOS E ABELHAS: CIENCIOMETRIA E ANÁLISE DE EFEITO RESIDUAL DE IMIDACLOPRIDE E BETA-CIFLUTRINA EM CANOLA *Brassica napus* L.** 2021. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

As abelhas são insetos fundamentais aos agroecossistemas, principalmente pela realização da polinização. No entanto, seu declínio tem sido observado e suspeita-se que a contaminação por agrotóxicos seja a responsável. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre agrotóxicos e abelhas. Para isto, realizou-se uma revisão bibliométrica, uma revisão sobre efeitos subletais ocasionados por neonicotinoides em *Apis mellifera* e um bioensaio sobre a toxicidade do efeito residual de inseticidas a operárias de *A. mellifera*. A revisão bibliométrica foi realizada com dados obtidos no banco de dados Web of Science (1.231) e analisados nos programas Microsoft Office Excel e CiteSpace. Os resultados apontam para um aumento significativo na pesquisa sobre o efeito dos agrotóxicos em abelhas nos últimos 15 anos. Os EUA e a França apresentam o maior número de publicações e foi observada uma relação moderada entre esta característica e o Produto Interno Bruto (PIB). Quando verificados os efeitos subletais ocasionados por neonicotinoides sobre *A. mellifera*, foram observados que os mesmos comprometem a fisiologia das abelhas, interferindo na transcrição de genes e no metabolismo, microbiota intestinal e na qualidade do sêmen. Além disso, comprometem o desempenho da colônia e influenciam negativamente no aprendizado, na memória, na atividade motora e na dança de comunicação, fatores estes que comprometem o desenvolvimento equilibrado das colônias, contribuindo a médio e a longo prazo para o desaparecimento das abelhas. Por fim, em experimento iniciado em semi-campo e conduzido em laboratório, operárias de *A. mellifera* foram expostas a material vegetal de canola contendo residual de imidacloprido, beta-ciflutrina e a mistura destes em 14, 09, 06, 03 e 0 dias após aplicação. A sobrevivência das abelhas foi avaliada por 96 horas. Pode-se observar redução na sobrevivência das abelhas quando comparados ao controle, de forma que quanto menor o intervalo entre o tempo de aplicação do produto no campo e o contato das abelhas, menor a sobrevivência destas. O produto contendo apenas beta-ciflutrina causou maior mortalidade e manteve maior residual ao longo dos dias, quando comparado aos outros tratamentos. São necessários métodos alternativos ao químico para o controle de insetos-praga na cultura da canola, para reduzir danos aos polinizadores. Em geral, estudos têm mostrado efeitos negativos de agrotóxicos nas abelhas, no entanto, a maioria das publicações estão relacionadas as abelhas do gênero *Apis* e, por isso, é necessário explorar a ação destes produtos sobre abelhas sem ferrão, solitárias e do gênero *Bombus*, bem como estudos avaliando os efeitos subletais desses produtos, tendo em vista que o número de moléculas utilizado no manejo de culturas agrícolas é vasto.

Palavras-chave: Polinizadores. *Apis mellifera*. Agroecossistemas. Inseticidas. Neonicotinoides.

ABSTRACT

ABATI, Raiza. **PESTICIDES AND BEES: SCIENTOMETRY AND RESIDUAL EFFECT ANALYSIS OF IMIDACLOPRID AND BETA-CYCLUTRINE IN CANOLA *Brassica napus* L.** 2021. 106 p. Dissertation (Master Degree in Agroecosystems) - Federal University of Technology - Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

Bees are fundamental insects in agroecosystems, mainly due to pollination. However, its decline has been observed and the contamination by pesticides are suspected to be responsible. In this sense, the objective of this work was to evaluate the relationship between pesticides and bees. For this, a scientometric review, a review on sublethal effects caused by neonicotinoids in *Apis mellifera* and a bioassay on the toxicity of the residual effect of insecticides to workers of *A. mellifera*. The scientometric review was performed with data obtained from the Web of Science database (1,231) and were analyzed using Microsoft Office Excel and CiteSpace. The results point to a significant increase in pesticide and bee research in the last 15 years. The USA and France have the largest number of publications and a moderate relationship between this trait and Gross Domestic Product (GDP) was observed. When verified the sublethal effects caused by neonicotinoids on *A. mellifera* it was observed that they compromise the physiology of bees, interfering in the transcription of genes and metabolism, intestinal microbiota and in the semen quality. In addition, they compromise colony performance and negatively influence learning, memory, motor activity and communication dance, factors that compromise the balanced development of colonies, contributing in the medium and long term to the disappearance of bees. Finally, in an experiment started in a semi-field and conducted in the laboratory, workers of *A. mellifera* were exposed to canola plant material containing residual imidacloprid, beta-cyfluthrin and the mixture of these in 14, 09, 06, 03 and 0 days after application. Bees' longevity was assessed for 96 hours. A reduction in the survival of the bees can be observed when compared to the control, so that the shorter the interval between the time of application of the product in the field and the contact of the bees, the lower the survival of the bees. The product containing only beta-cyfluthrin caused higher mortality and maintained greater residual over the days, when compared to other treatments. Alternative to chemical methods are needed to control pest insects in canola culture to reduce damage to pollinators. In general, studies have shown negative effects of pesticides on bees, however, most publications are related to bees of the genus *Apis* and, therefore it is necessary to explore the action of these products on stingless bees, solitary bees and genus *Bombus*, as well as studies evaluating the sublethal effects of these products, considering that the number of molecules used in the management of agricultural crops is vast.

Keywords: Pollinators. *Apis mellifera*. Agroecosystems. Insecticides. Neonicotinoids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Uso médio de agrotóxico por área plantada entre os anos de 1990 e 2018	22
Figura 2 - Relação entre o número de publicações, citações e média de citações por ano de publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas (1945-2020)	32
Figura 3 A - Número de estudos (centro do círculo) e autores (anel do círculo) que avaliaram os efeitos subletais de inseticidas em abelhas em 2019–2020 separados por grupo químico (abaixo do círculo) B - Estudos de efeitos subletais de neonicotinoides (centro do círculo) em abelhas por autores (anel de círculo) em 2019-2020	34
Figura 4 A - Revistas científicas com as publicações mais citadas sobre a relação entre agrotóxicos e abelhas B - Classificação da revista científica quanto de frequência e fator de impacto Journal Citation Reports (JCR) em 2019.....	38
Figura 5 A - Número de publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas distribuídas geograficamente B - Países / regiões com mais publicações na Web of Science (WoS) e com uma explosão de citações relacionadas a agrotóxicos e abelhas C - Os 15 principais países / regiões com frequência e centralidade	40
Figura 6 - Palavras-chave mais utilizadas em publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas.....	45
Figura 7 A - Instituições com mais publicações na Web of Science e com uma explosão de citações relacionando agrotóxicos e abelhas B - As 15 principais instituições com frequência e centralidade	47
Figura 8 - Figura 8 - Categorias com maior número de publicações relacionadas a pesticidas e abelhas	49
Figura 9 – Croqui da área contendo as parcelas de aplicação dos produtos (I: imidacloprido; I+B: imidacloprido + beta – ciflutrina; B: Beta-ciflutrina; C: Controle) com os respectivas dias de pulverização antes da montagem do experimento (14D: Plantas pulverizadas 14 dias antes do experimento; 09D: 09 dias antes do experimento; 06D: 06 dias antes do experimento; 03D: 03 dias antes do experimento; 00D: dia do experimento)	74
Figura 10 A - Coleta de dos materiais vegetais contendo os tratamentos em área experimental da UTFPR – Dois Vizinhos. B - Material vegetal acondicionada em placas de Petri identificadas conforme tratamento e dia de pulverização	75
Figura 11 A - Operárias de <i>Apis mellifera</i> em contato com material vegetal contendo os tratamentos. B - Operárias de <i>Apis mellifera</i> acondicionada em gaiolas de PVC após contato com os tratamentos. C - Gaiolas de PVC alocadas em sala climatizada (27 ± 2 °C, U.R. de 60 ± 10% e fotoperíodo de 12h).	76
Figura 12 - Operárias de <i>Apis mellifera</i> acondicionadas em gaiolas de PVC sob efeito Knock down ocasionado pelos inseticidas	77
Figura 13 - Operárias de <i>Apis mellifera</i> retiradas das gaiolas com mortalidade confirmada após 18 horas de experimento	78
Figura 14 - Sobrevivência de operárias de <i>Apis mellifera</i> , por Kaplan-Meier, ajustado ao período (horas) após a exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias e 00 dias de imidacloprido, e ao controle. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa (p <0,05)	79

Figura 15 - Gráfico de sobrevivência de operárias de <i>Apis mellifera</i> , por Kaplan-Meier, ajustado ao período (horas) após a exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias, 00 dias de beta-ciflutrina, e ao controle. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$)	80
Figura 16 - Gráfico de sobrevivência de operárias de <i>Apis mellifera</i> , por Kaplan-Meier, ajustado ao período (horas) após a exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias, 00 dias de beta-ciflutrina + imidacloprido, e ao controle. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).....	81
Quadro 1 - Função das abelhas operárias em razão da idade.....	19
Quadro 2 - Publicações avaliando tipos de genes, expressão gênica e atividade enzimática de abelhas <i>Apis mellifera</i> expostas a doses subletais de neonicotinoides	55
Quadro 3 - Publicações avaliando a microbiota intestinal de operárias de <i>Apis mellifera</i> alimentadas com doses subletais de neonicotinoides	60
Quadro 4 - Publicações avaliando parâmetros do sêmen de <i>Apis mellifera</i> expostas a doses subletais de neonicotinoides	61
Quadro 5 - Publicações avaliando desempenho da colônia de <i>Apis mellifera</i> próximas a culturas plantas utilizando sementes tratadas com neonicotinoides	62
Quadro 6 - Publicações avaliando desempenho da colônia de <i>Apis mellifera</i> alimentada com doses subletais de neonicotinoides.....	63
Quadro 7 - Publicações avaliando aprendizado e memória pelo ensaio de resposta da extensão de probóscide em abelhas operárias de <i>Apis mellifera</i> expostas a doses subletais de neonicotinoides	65
Quadro 8 - Publicações avaliando a locomoção em abelhas operárias de <i>Apis mellifera</i> expostas a doses subletais de neonicotinoides.....	67
Quadro 9 - Publicações avaliando a atividade de forrageamento em abelhas operárias de <i>Apis mellifera</i> expostas a doses subletais de neonicotinoides	68
Quadro 10 - Publicações avaliando a dança de comunicação em abelhas operárias de <i>Apis mellifera</i> expostas a doses subletais de neonicotinoides	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ranking das publicações mais citadas relacionando agrotóxicos e abelhas com título, autores, periódico científico, ano de publicação, total de citações e média por ano, de acordo com Web of Science (2020)	36
Tabela 2 - Correlação entre o número total de publicações e os índices econômicos e demográficos dos países e o uso de agrotóxicos.....	43
Tabela 3 - Ingredientes ativos dos produtos, concentração do produto comercial e dose recomendada pelo fabricante.....	74
Tabela 4 - Sobrevivência de operárias de <i>Apis mellifera</i> após 48 horas da exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias, 00 dias de I: imidacloprido, B: beta-ciflutrina e B+I: beta-ciflutrina + imidacloprido.....	82

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 A POLINIZAÇÃO E OS AGROECOSSISTEMAS	16
2.2 ABELHAS AFRICANIZADAS <i>Apis mellifera</i> L. (1958)	17
2.3 MORTALIDADE E DESORDEM DO COLAPSO DAS COLÔNIAS (DCC).....	19
2.4 AGROTÓXICOS	21
2.5 INSETICIDAS QUÍMICOS SINTÉTICOS	22
2.6 RELAÇÃO ENTRE INSETICIDAS E ABELHAS	23
3 ABELHAS E AGROTÓXICOS: O IMPACTO DA PESQUISA E AS RELAÇÕES CIENCIOMÉTRICAS	26
3.1 INTRODUÇÃO	26
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.3.1 Publicações sobre abelhas e agrotóxicos ao longo do tempo	31
3.3.2 Impacto das publicações	35
3.3.3 Relação entre pesquisa e PIB de diferentes países	39
3.3.4 Perfil de pesquisa	44
3.4 CONCLUSÃO	50
4 EFEITOS SUBLETAIS OCASIONADOS POR NEONICOTINOIDES EM <i>Apis mellifera</i> L. (HYMENOPTERA: APIDAE)	51
4.1 INTRODUÇÃO	51
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.3.1 Alterações fisiológicas	53
4.3.1.1 Alteração nos genes, na expressão gênica e na atividade enzimática	53
4.3.1.2 Microbiota intestinal	59
4.3.1.3 Alterações do Sêmen.....	61
4.3.2 Desempenho da Colônia	62
4.3.3 Interferência dos inseticidas no comportamento	64
4.3.3.1 Alterações de aprendizado e memória.....	64
4.3.3.2 Impactos na função motora.....	66
4.3.3.3 Impactos na dança de comunicação.....	69
4.4 CONCLUSÃO	70
5 EFEITO DO RESIDUAL DE IMIDACLOPRIDO E BETA-CIFLUTRINA A OPERÁRIAS DE <i>Apis mellifera</i> L. AFRICANIZADA (HYMENOPTERA: APIDAE) 71	
5.1 INTRODUÇÃO	71
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
5.3 RESULTADOS.....	77

5.4 DISCUSSÃO.....	82
5.5 CONCLUSÃO.....	86
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87
REFERÊNCIAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

As abelhas possuem destacada importância nos agroecossistemas, pois podem ser utilizadas como bioindicadores ambientais (BARGAŃSKA; ŚLEBIODA; NAMIEŚNIK, 2015; CELLI; MACCAGNANI, 2003; QUIGLEY; AMDAM; HARWOOD, 2019), produzem mel, própolis, cera, geleia real e apitoxina (VIUDA-MARTOS et al., 2008). Entretanto, o principal serviço prestado é a polinização, sendo considerada como o principal agente polinizador dos vegetais (AIZEN; HARDER, 2009; WINFREE; GROSS; KREMEN, 2011).

A espécie *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) destaca-se em sistemas naturais pela sua distribuição e atividade de forrageamento em diversas espécie de plantas (HUNG et al., 2018). Porém outras espécies encontradas no Brasil como *Bombus* sp., *Xylocopa* sp. (Hymenoptera: Anthophoridae), *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836, *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836, *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae), *Megachile rotundata* Fabricius, 1787 (Hymenoptera: Megachilidae) também são reconhecidas como importantes polinizadores (ALI et al., 2011; BPBES, 2019; GARRATT et al., 2014; HEIN LARS, 2009; JAUKER et al., 2012; MORANDIN; WINSTON, 2005). Isso ocorre em razão de que, mesmo com a variedade de espécies com hábitos de vida distintos, todas estas necessitam visitar diversas flores por dia, em busca de pólen, néctar e resina, a fim de suprir suas necessidades individuais, de suas crias ou colônias (CALDERONE, 2012; CHIARI et al., 2008; RUCKER; THURMAN, 2012).

Através da polinização é possível obter aumento produtivo e na qualidade de sementes e grãos, aumento no tamanho, peso, na qualidade (acidez, volume de suco, teor de açúcares) e número de frutos, além de diminuir deformidades e possibilitar o amadurecimento uniforme destes (CALDERONE, 2012; GIANNINI et al., 2015; IPBES, 2016; POTTS et al., 2010). Desta maneira, as abelhas garantem o equilíbrio e a manutenção dos agroecossistemas. Estima-se que o serviço de polinização contribui com 35% do volume da produção mundial de alimentos, conferindo entre 5% a 8% do valor da produção mundial, valor este, correspondente a US\$ 235 a 577 bilhões de dólares por ano (IPBES, 2016).

No entanto, desde o ano de 2006, devido ao fenômeno denominado Desordem do Colapso das Colônias (DCC), pesquisas têm sido realizadas para investigar as perdas de colônia de abelhas em todo o mundo, uma vez que estas

desaparecem abandonando sua cria, seu alimento, sua colônia e não se observa a presença de abelhas mortas nas proximidades (KAPLAN, 2012; VANENGELSDORP et al., 2009). Além da DCC, apicultores têm observado a mortalidade de abelhas nas proximidades das colônias, apresentando em sua maioria, traços de agrotóxicos, tanto nas abelhas, quanto no mel e na cera (CALATAYUD-VERNICH et al., 2018; MULLIN et al., 2010; POHORECKA et al., 2017).

Os inseticidas químicos sintéticos estão intimamente ligados ao desaparecimento e mortalidade de abelhas (CHRISTEN; FENT, 2017; MULLIN et al., 2010; POHORECKA et al., 2017; TOMÉ et al., 2019), já que a maioria destes não é seletivo a inimigos naturais e nem a polinizadores, e com o forrageamento realizado pelas operárias, é possível o contato com as flores contaminadas por estes produtos. Por isso, desde 2013, os inseticidas imidacloprido, tiametoxam e clotianidina, pertencentes ao grupo químico dos neonicotinoides, tiveram seu uso restrito a estufas na União Europeia, através do Regulamento de Implementação (UE) N° 485/2013 (Comissão Europeia, 2013).

Os inseticidas têm o potencial de ocasionar a morte imediata das abelhas, ocasionar efeitos subletais e ainda interferir no funcionamento da colônia (AMARO; GODINHO, 2012; CATAE et al., 2018a; TOSI; NIEH, 2017; WOLFF; REIS; SANTOS, 2008). Neste sentido, além de estudos relacionados a mortalidade dos polinizadores, tem-se investigado os efeitos subletais destes produtos sobre as abelhas. Entre os vários efeitos, tem-se estudado as alterações comportamentais (ALIOUANE et al., 2009; CHARRETON et al., 2015; TOSI; NIEH, 2017), as alterações bioquímicas e as metabólicas (CATAE et al., 2018a; CHAIMANEE et al., 2016; CHRISTEN; FENT, 2017). Apesar destas pesquisas, ainda há muito a se pesquisar sobre o efeito dos produtos, sintéticos ou não, sobre as abelhas, em especial o efeito residual de inseticidas sobre abelhas.

Assim, conhecendo a importância das abelhas *A. mellifera* para os agroecossistemas, principalmente pelo incremento produtivo dado por estes polinizadores, torna-se imprescindível o reconhecimento das causas que vem interferindo na sua sobrevivência e capacidade de desenvolver suas funções. Além disso, sabendo que os inseticidas químicos sintéticos estão relacionados à mortalidade de abelhas e, possivelmente, a DCC, é importante a verificação da ação do efeito residual dos ingredientes ativos imidacloprido e beta-ciflutrina, amplamente utilizados para o controle de insetos, na longevidade de insetos não-alvo, em especial

de *A. mellifera*. Neste sentido, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a relação entre agrotóxicos e abelhas. Para isto, realizou-se uma revisão bibliométrica, uma revisão sobre efeitos subletais ocasionados por neonicotinoides em *A. mellifera* e um bioensaio sobre a toxicidade do efeito residual de inseticidas a operárias de *A. mellifera*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A POLINIZAÇÃO E OS AGROECOSSISTEMAS

Os agroecossistemas podem ser definidos como ecossistemas, naturais ou não, alterados pelos humanos para o cultivo agrícola. Nestes sistemas, ocorre a inserção de insumos, como fertilizantes, água e controle de pragas e doenças, com objetivo de melhorar o cultivo para posterior comercialização dos produtos agrícolas (LOWRANCE; STINNER; THRUPP, 1984). Neste sentido, os agroecossistemas possuem como características a utilização de fontes auxiliares de energia, além disso, a diversidade é menor em relação aos ecossistemas naturais, os animais e as plantas estão sujeitos a seleção artificial e o controle de pragas ocorre em sua maioria por fatores externos (ODUM, 1984).

Desempenhando papel fundamental como regulador dos agroecossistemas está a polinização, onde os agentes polinizadores auxiliam na estabilidade e funcionamento das populações vegetais, garantindo a produtividade, a manutenção e a variabilidade genética das espécies (CALDERONE, 2012; GIANNINI et al., 2015; IPBES, 2016; POTTS et al., 2010). Assim, permitem que as plantas, além de servirem como fonte de alimento, atuem como abrigo de outros seres vivos (IPBES, 2016).

De maneira geral, a polinização pode ser definida como a transferência do pólen, das anteras para o estigma das flores, onde ocorrerá a germinação, garantindo a reprodução. Em razão do pólen não apresentar mobilidade, necessita de agentes que atuem no seu transporte, podendo ele ser realizado pelo vento, água, insetos, e por alguns vertebrados (SIHAG, 2018).

Dentre estes agentes de transporte, destaca-se a polinização realizada por insetos, sendo as abelhas os principais polinizadores dos cultivos vegetais. Este fato ocorre, em razão das abelhas buscarem por pólen, néctar e resina, o que faz com que estas visitem diversas flores por dia, a fim de suprir suas necessidades e da colônia (CALDERONE, 2012; CALVETE et al., 2010; CHIARI et al., 2008; RUCKER; THURMAN; BURGETT, 2012). A espécie *Apis mellifera* L. tem destaque em sistemas naturais, tendo em vista sua distribuição e sua atividade de forrageamento em ampla variedade de espécies (HUNG et al., 2018). Outras espécies também são excelentes polinizadores, como é o exemplo das mamangavas (*Bombus* sp. e *Xylocopa* sp.)

(Hymenoptera: Anthophoridae), das abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836, *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836, *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811) (Hymenoptera: Apidae) e das abelhas solitárias (*Amegilla chlorocyanea* Cockerell, 1914, *Megachile rotundata* Fabricius, 1787 e *Osmia lignaria* Say, 1837) (ALI et al., 2011; GARRATT et al., 2014; HEIN LARS, 2009; JAUKER et al., 2012; MORANDIN; WINSTON, 2005).

Klein et al. (2007) afirmam que as abelhas são responsáveis pela polinização de 90% das espécies. Mesmo em espécies agrícolas cujas flores são fechadas e apresentam dificuldade do contato do inseto para efetividade da polinização, pode-se observar o incremento produtivo com a presença dos insetos. A cultura da soja (*Glycine max*), quando polinizada por abelhas, apresenta aumento de até 37% na produtividade de grãos em relação a soja não polinizada (CHIARI et al., 2008). Em estudo realizado na cultura da canola (*Brassica napus*) também foi observado aumento na produção de sementes e melhoria na produtividade de plantas desta espécie quando polinizadas por *A. mellifera* (ROSA; BLOCHTEIN; LIMA, 2011).

Em geral, o serviço de polinização contribui em 35% do volume de produção de alimentos, sendo que este representa entre 5% a 8% do valor da produção mundial (IPBES, 2016). Além disso, a falta de agentes polinizadores interfere negativamente na produtividade de frutos, falta de padronização quanto ao aspecto, sabor, tamanho e formato e ocasionam problemas no rendimento e no lucro do produtor (COBRA et al., 2015; FREITAS; SILVA, 2015; OLIVEIRA; NICODEMO; OLIVEIRA, 2015).

2.2 ABELHAS AFRICANIZADAS *Apis mellifera* L. (1958)

As abelhas *A. mellifera* são insetos pertencentes a ordem Hymenoptera, família Apidae, sendo que no Brasil a ocorrência é de abelhas africanizadas (COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010). As abelhas melíferas africanizadas são o resultado do cruzamento entre subespécies europeias e africanas. Este cruzamento ocorreu através do enxameamento não proposital de colônias de subespécies africanas, trazidas para o Brasil, para pesquisas relacionadas a resistência e tolerância a doenças, tendo em vista que as espécies europeias, de ocorrência nacional, apresentavam suscetibilidade a doenças e pragas, comprometendo sua

produtividade. O resultado proporcionou abelhas mais resistentes e mais produtivas, porém mais defensivas (RAMOS; CARVALHO, 2007).

Esta espécie, além da atividade de polinização, principal produto das abelhas, também possui importância pela produção de mel, própolis, geleia real e apitoxina, possibilitando incremento econômico aos produtores (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012). Desta forma, *A. mellifera* africanizada é a espécie exótica de maior ocorrência no Brasil, sendo amplamente criada devido a produção de mel e rusticidade (COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010).

Por se tratar de um inseto social, o mesmo se organiza em três castas, cujas funções são distintas, e com isso, a necessidade da presença de todas para o equilíbrio da colônia. A primeira diferença entre elas está na morfologia, sendo a abelha rainha a maior, seguida pelos zangões e posteriormente pelas operárias, que além do tamanho, embora sejam fêmeas, possuem órgão reprodutor atrofiado, e contam com ferrão, utilizado para defesa, no local do ovipositor (COUTO; COUTO, 2006; GALLO et al., 2002; TAUTZ, 2010). Ainda segundo os mesmos autores, ocorre a diferenciação quanto as funções, na qual a rainha, através da liberação de feromônio, possui o papel de manter a colônia harmônica e impedir a formação de novas rainhas, além disto, é responsável pela oviposição nos alvéolos, após o voo nupcial. A segunda é representada pelos zangões, machos da colônia, responsáveis pelo aquecimento e fecundação da abelha rainha, os que, após a cópula e durante o voo nupcial, morrem. E por fim, estão as operárias, presentes em maior quantidade e que são responsáveis por executar todas as tarefas da colônia. Estas tarefas realizadas pelas operárias são divididas em função da idade e do desenvolvimento glandular (Quadro 1). Embora as tarefas sejam desempenhadas conforme a idade, pode haver sobreposição de tarefas, conforme as necessidades da colônia.

Quadro 1 - Função das abelhas operárias em razão da idade

Idade	Função
1° ao 5° dia	Limpeza dos alvéolos e de abelhas recém-nascidas
5° ao 10°	Nutrem as larvas em desenvolvimento, durante este período também passam por alto desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas e mandibulares, produtoras de geleia real
11° ao 20° dia	Recebem e desidratam o néctar trazido pelas forrageiras, elaborando o mel, além de apresentarem alto desenvolvimento das glândulas ceríferas, possibilitando a produção de cera para construção dos favos
18° ao 21° dia	Responsáveis pela defesa e controle da temperatura da colmeia
22° dia até a morte	Coleta de néctar, pólen, resinas e água.

Fonte: Couto; Couto (2006)

As operárias que realizam as atividades de coleta são denominadas campeiras ou forrageiras. Desta forma, durante o forrageamento as abelhas têm contato com inúmeras plantas, a fim de suprir as necessidades individuais e da colônia, podendo, neste processo, ocorrer o contato com agentes contaminantes, fazendo com que estes sejam carregados consigo até a colônia, de maneira que possam causar o enfraquecimento e até mesmo a morte da colônia (AMARO; GODINHO, 2012; CHIARI et al., 2008; WATSON; STALLINS, 2016).

2.3 MORTALIDADE E DESORDEM DO COLAPSO DAS COLÔNIAS (DCC)

Entre os anos de 2014 e 2017 o projeto colmeia viva realizou o mapeamento de abelhas participativo (MAP, 2017), no qual realizava visitas em propriedades que registravam perdas de colônias superiores a 20%. Em 88 das propriedades visitadas foram realizadas coletas de abelhas para análise de resíduos de produtos químicos utilizados na agricultura, das quais 67% das amostras apresentaram resultado positivo, principalmente, para neonicotinóides e pirazol (MAP, 2017).

Além disso, no período de dezembro de 2018 a fevereiro de 2019 apicultores contabilizaram mais de 500 milhões de abelhas mortas apenas nos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina. O Rio Grande do Sul, foi o estado com maior ocorrência, apresentando um total de 400 milhões de abelhas mortas. Em testes laboratoriais, aproximadamente, 80% das amostras coletadas no

Rio Grande do Sul apresentaram traços de inseticidas químicos sintéticos. Dentre eles alguns representantes do grupo dos neonicotinoides e também da molécula fipronil, produtos amplamente utilizados no manejo dos cultivos agrícolas (GRIGORI, 2019).

Outro fenômeno também conhecido é denominado como Desordem do Colapso das Colônias (DCC). Este fenômeno é definido pelo rápido desaparecimento de abelhas adultas operárias, pelo enfraquecimento ou morte da colônia, mesmo possuindo grande quantidade de crias, além de não apresentarem invasão por pragas e nem a presença de crias e abelhas adultas mortas dentro ou nas proximidades da colônia (VANENGELSDORP et al., 2009). O primeiro relato de ocorrência de DCC foi no final de 2006, nos Estados Unidos da América, onde os apicultores relataram perdas entre 30 a 90% nas colônias, sem que houvesse uma causa aparente (KAPLAN, 2012). Enquanto no Brasil, os primeiros relatos sobre perdas de colônias com sintomas de DCC ocorreram no ano de 2010, no estado de São Paulo (PIRES et al., 2016).

Estudos vêm sendo realizados a fim de determinar as causas deste colapso, aos quais indica-se a probabilidade de estarem relacionados a mais de um fator e da possível interação entre esses. Dentre eles estão a presença de fungos e vírus, presença do ácaro *Varroa destructor* Anderson e Trueman, 2000 (Parasitiformes: Varroidae), o qual se alimenta da hemolinfa de *A. mellifera*, dentre outros patógenos, como *Nosema*. Destacam-se também os produtos químicos, tóxicos à espécie; monoculturas, que causam estresse nutricional; desmatamento; mudanças climáticas; diminuição de fluxo gênico; baixa variabilidade genética da rainha; manejo incorreto das colônias. Soma-se a estes fatores, o uso excessivo e/ou incorreto de agrotóxicos, também denominados de produtos fitossanitários sintéticos (CARVALHO et al., 2009; COSTA-MAIA; LOURENCO; TOLEDO, 2010; KAPLAN, 2012; KINOSHITA et al., 2006; NRCS, 2008; POTTS, 2015).

Diante disto, pesquisas para delimitações sobre as causas da DCC e para as causas da mortalidade das abelhas tornam-se essenciais para a tomada de decisão e mitigação destes efeitos, já que a polinização, pelas abelhas, influencia na produção agrícola, proporcionando aumento e melhoria na qualidade produtiva dos vegetais. Além disso, ressalta-se que o desaparecimento das abelhas poderá comprometer a produção mundial de alimentos (BPBES, 2019; OLIVEIRA, 2015; SANFORD, 2011).

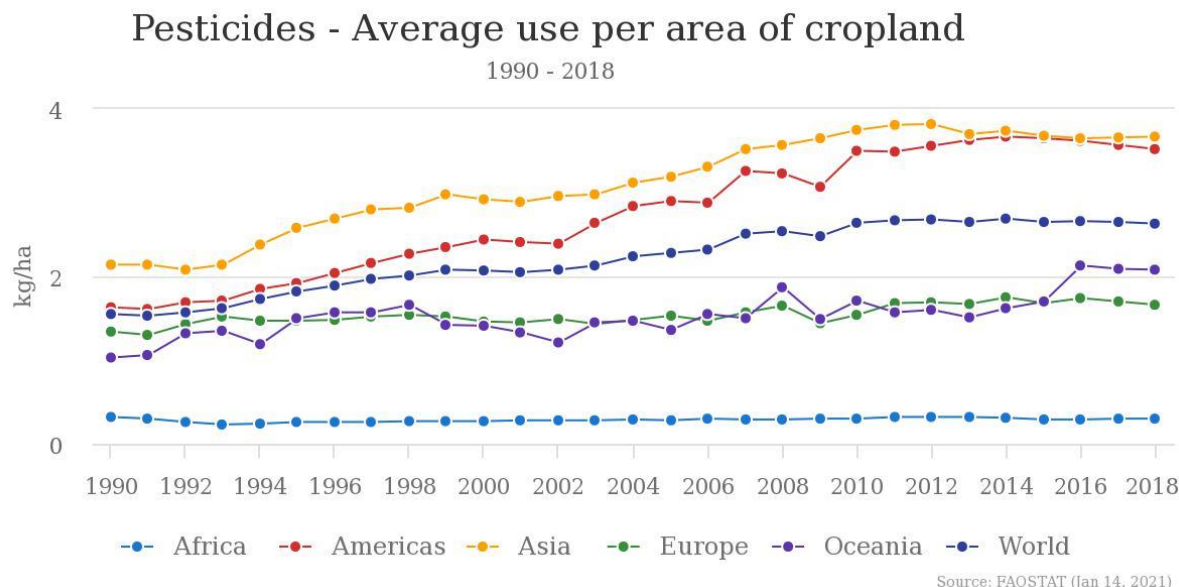
2.4 AGROTÓXICOS

O aumento na demanda de produção de alimentos alavancou pesquisas para melhoria na qualidade dos cultivos e aumento na produtividade. Dentre outros fatores, a redução nas perdas agrícolas, especialmente as perdas ocasionadas por pragas, tornou-se primordial para garantia da produtividade (CARVALHO, 2017; PESHIN et al., 2009; PESHIN; ZHANG, 2014), tendo em vista que os insetos-praga causam 14% de perdas, os fitopatógenos e as plantas daninhas causam 13% de perdas cada um (PIMENTEL, 2009).

Estima-se, em nível mundial, que existam cerca de 9.000 espécies de insetos e ácaros, 50.000 espécies de patógenos de plantas, e 8.000 espécies de plantas daninhas que causam impacto negativo nos cultivos agrícolas (ZHANG; JIANG; OU, 2011). Neste sentido, o uso de agrotóxicos, como os inseticidas, herbicidas, fungicidas e acaricidas contribuem para o avanço agrícola mundial, pois facilitam o manejo das culturas, promovendo o aumento e melhora na qualidade da produção (CARVALHO, 2017).

Os agrotóxicos são definidos como qualquer substância ou mistura de substâncias utilizadas para prevenir, destruir, repelir ou mitigar alguma peste, ou utilizado como regulador vegetal, dessecante ou desfolhador e também os estabilizadores de nitrogênio (FIFRA, 2013). Dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), demonstram aumento na utilização mundial de agrotóxicos ao longo dos anos, na qual a média de utilização mundial por área plantada no ano de 2018 foi de 2.68 kg de ingrediente ativo por hectare plantado, destacando-se acima da média o continente Asiático (3,66 kg/ha) e as Américas (3.52 kg/ha) (FAO, 2019).

Figura 1- Uso médio de agrotóxico por área plantada entre os anos de 1990 e 2018.



Fonte: FAO (2019)

Embora os agrotóxicos sejam essenciais para o manejo dos cultivos agrícolas, quando não utilizados adequadamente, podem causar contaminação para o ambiente e para os seres humanos (PINTO et al., 2020; SINGH et al., 2017). Ademais, podem estar estreitamente relacionados ao declínio de polinizadores (BATTISTI et al., 2021; GILL; RAMOS-RODRIGUEZ; RAINE, 2012; GOULSON et al., 2015; WHITEHORN et al., 2012).

2.5 INSETICIDAS QUÍMICOS SINTÉTICOS

Os inseticidas químicos sintéticos atuam sobre o inseto por um processo bioquímico, onde a molécula química é capaz de causar alterações nos processos fisiológicos, ocasionando toxicidade ou impossibilitando sua sobrevivência. Os inseticidas podem ser classificados como neurotóxicos, reguladores de crescimento, inibidores da respiração celular, entre outros. Dentre esses, o de maior ocorrência e eficácia no controle de insetos-praga são os neurotóxicos (GALLO et al., 2002).

Os neonicotinoides são inseticidas neurotóxicos e estão entre os mais utilizados no mundo, correspondendo a 25% do mercado de inseticidas (BASS et al., 2015). A atuação deste grupo químico ocorre na transmissão sináptica, no sítio de

ação dos moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina. São agonistas da acetilcolina e competem com ela pelos receptores nicotínicos presentes na membrana pós-sináptica, ocasionando a ativação dos receptores de acetilcolina tornando-a mais prolongada, ocasionando alta excitabilidade do sistema nervoso central, tremores e, posteriormente, a morte do inseto, em razão da passagem contínua e descontrolada de impulsos nervosos (GALLO et al., 2002; TOMIZAWA; CASIDA, 2005; VAN DER SLUIJS et al., 2013).

Dentro deste grupo, existem diversos ingredientes ativos, sendo um deles o imidacloprido, que compõe uma variedade de produtos comerciais. Estes produtos são utilizados nas diversas culturas agrícolas, devido ao controle de insetos-praga como os do complexo de percevejos, mosca-branca, pulgões, brocas, entre outros (AGROFIT, 2021).

Outro grupo presente entre os neurotóxicos é o grupo dos piretroides, com atuação na transmissão axônica, com sítio de ação primário nos moduladores de canais de sódio. Os piretroides interferem na abertura e fechamento dos canais de sódio (Na^+) neural, aumentando o tempo de entrada dos íons Na^+ para o interior das células. Após o contato, rapidamente ocorre a paralisia e a morte dos insetos (AZNAR-ALEMANY; ELJARRAT, 2020; GALLO et al., 2002; NARAHASHI, 1996). A beta-ciflutrina é um exemplo de piretroide comumente utilizado na agricultura brasileira, pois assim como imidacloprido, possui amplo espectro de ação e com registro em diversas culturas como algodão, batata, café, cebola, citros, feijão, milho, soja, tomate, entre outros (AGROFIT, 2021). Embora a recomendação de imidacloprido e beta-ciflutrina seja para o controle de insetos pertencentes as ordens Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera e Thyssanoptera (AGROFIT, 2021), podem também causar toxicidade a insetos úteis, como por exemplo da ordem Hymenoptera.

2.6 RELAÇÃO ENTRE INSETICIDAS E ABELHAS

Os neonicotinoides e piretroides, por atuarem no sistema nervoso dos insetos, podem ocasionar efeitos negativos a insetos não-alvo. Carvalho et al. (2009) analisando a toxidade do neonicotinoide tiametoxam sobre abelhas, observou a mortalidade de 100% das operárias de *A. mellifera* nove horas depois da pulverização direta sobre elas. Este mesmo ingrediente ativo, quando testado em doses subletais

sobre a mesma espécie de abelha ocasionou alterações morfológicas e histoquímicas nas células digestivas e regenerativas do mesêntero, influenciando também na longevidade (OLIVEIRA et al., 2014).

Em estudo realizado por Chaimanee et al. (2016), utilizando quatro doses do neonicotinoide, imidacloprid (0,02, 0,1, 0,2 e 0,4 ppm), verificaram que as rainhas tratadas, em ambos os bioensaios, apresentaram diminuição da viabilidade espermática e mortalidade de 50% dos espermatozoides contidos na espermateca após o sétimo dia de tratamento. Os zangões, quando em contato com neonicotinoides, apresentaram redução na longevidade e na viabilidade espermática (STRAUB et al., 2016).

Abelhas tratadas com doses subletais de neonicotinoide apresentaram, após oito dias, alterações bioquímicas no cérebro, quando comparadas a testemunha. Essas alterações ocorreram em proteínas responsáveis pela aprendizagem e aquisição de memória, manutenção da integridade dos neurônios e desintoxicação (CATAE et al., 2018a).

Stanley et al. (2015) ao testarem piretroides, neonicotinoides e organofosforados, conforme concentração recomendação pelo fabricante, observaram a mortalidade total das abelhas *A. mellifera* depois de 48 horas de contato. Abelhas operárias de *A. mellifera* que ingeriram doses de acetamipride (neonicotinoide) e deltametrina (piretroide), apresentaram falha na retenção da memória, através do ensaio de reflexo de extensão da probóscide (THANY et al., 2015). O piretroide cipermetrina, em doses subletais, quando incluído na dieta de *A. mellifera carnica*, ocasionou modificações genéticas no cérebro das operárias, com alterações prejudiciais ao sistema imune e metabólico, além disso, influenciou na expressão vitelogênica, responsável pela atividade de forrageamento (CHRISTEN; FENT, 2017).

A. mellifera expostas a doses subletais (um décimo de sua dose letal média) de tiametoxam, acetamepride e fipronil apresentaram limitação das funções motoras, sensoriais e cognitivas (ALIOUANE et al., 2009). Doses subletais de três piretroides e um neonicotinoide causaram interferência na locomoção de operárias de *A. mellifera* recém emergidas, sendo que após 48 horas de exposição aos produtos, ocorreu a redução na área de caminhamento, quando comparados à testemunha (CHARRETON et al., 2015). Ao avaliar o comportamento de *A. mellifera* após exposição aguda e crônica, com tempos variados de exposição, ao ingrediente ativo

tiametoxam, foram observadas alterações locomotoras, representadas por deficiência na locomoção com quedas e movimentos anormais (TOSI; NIEH, 2017). Estes são alguns dos estudos que demonstram que além da mortalidade, doses subletais podem comprometer a fisiologia e o comportamento de abelhas.

3 ABELHAS E AGROTÓXICOS: O IMPACTO DA PESQUISA E AS RELAÇÕES CIENCIOMÉTRICAS

3.1 INTRODUÇÃO

As abelhas estão entre os insetos mais importantes pois, além da produção de mel, têm papel fundamental nos agroecossistemas. Dentre estes, merece atenção o papel enquanto bioindicadores ambientais, pois podem indicar a presença de agrotóxicos no ambiente (BARGAŃSKA; ŚLEBIODA; NAMIEŚNIK, 2015; CELLI; MACCAGNANI, 2003; QUIGLEY; AMDAM; HARWOOD, 2019). Além do mel, as abelhas produzem própolis, apitoxina, cera e geleia real, que são utilizadas como base para medicamentos e na indústria alimentícia (VIUDA-MARTOS et al., 2008).

As abelhas também têm sido usadas com sucesso como animais modelos para estudos em humanos (FELSENBERG et al., 2011; MALESZKA, 2014; SØVIK; CORNISH; BARRON, 2013; SRINIVASAN, 2010; ZHENG et al., 2018). Além de todos esses papéis, um dos mais relevantes e vitais para o planeta é a polinização (AIZEN; HARDER, 2009; WINFREE; GROSS; KREMEN, 2011). Isso porque as abelhas vão em busca de pólen, néctar e resina, o que faz com que visitem várias flores por dia, a fim de suprir suas necessidades e a colônia (CALDERONE, 2012; CHIARI et al., 2008; RUCKER; THURMAN, 2012).

Desta forma, 90% das espécies vegetais dependem de polinizadores (KLEIN et al., 2007). Em geral, o serviço de polinização contribui com 35% do volume da produção de alimentos, o que representa entre 5% a 8% do valor da produção mundial (IPBES, 2016). Ainda, segundo os mesmos autores, esse serviço corresponde de 235 a 577 bilhões de dólares por ano (IPBES, 2016). Os valores atribuídos ao serviço das abelhas em culturas totalmente dependentes de polinização chega ao total de 11,68 bilhões de dólares, enquanto para as culturas não dependentes diretamente de polinização, o valor foi de 5,39 bilhões de dólares nos EUA (CALDERONE, 2012). Estima-se que o serviço do polinizador corresponde a, aproximadamente, 30% do valor total da produção agrícola das safras anuais no Brasil (45 bilhões de dólares), o que representa em torno de 12 bilhões de dólares da produção total. Na cultura da soja, esse valor representa o montante de 5,7 bilhões de dólares, o que corresponde a aproximadamente 26% de um total de 22 bilhões de dólares, relativos a produção anual desta cultura no Brasil (GIANNINI et al., 2015).

A polinização desempenha um papel fundamental como regulador dos sistemas de cultivo, no qual os agentes polinizadores auxiliam na estabilidade e funcionamento das populações vegetais, garantindo a produtividade, manutenção e variabilidade genética das espécies (CALDERONE, 2012; GIANNINI et al., 2015; IPBES, 2016; POTTS et al., 2010). Além de servirem como fonte de alimento, permitem que as plantas sirvam de abrigo para outros seres vivos (IPBES, 2016).

No entanto, desde 2006, perdas de colônias foram relatadas em várias partes do mundo, sendo este fenômeno foi definido como Desordem do Colapso de Colônia (DCC). No DCC, as abelhas adultas desaparecem, abandonando as crias, seu alimento, sua colônia, sem a presença de abelhas mortas nas proximidades (KAPLAN, 2012; VANENGELSDORP et al., 2009). Os apicultores também observaram a mortalidade de abelhas nas proximidades das colônias, isso difere do DCC devido aos traços de agrotóxicos encontrados em abelhas, mel e cera (CALATAYUD-VERNICH et al., 2018; MULLIN et al., 2010; POHORECKA et al., 2017).

Dentre os principais fatores que podem contribuir para o DCC e a mortalidade das abelhas, destacam-se: doenças, desmatamento, queimadas, ação dos meleiros, ação das serrarias, fragmentação de florestas, agrotóxicos e ácaros, como *Varroa* (Parasitiformes: Varroidae) (GIROLAMI et al., 2009; KINOSHITA et al., 2006; NRCS, 2008; POTTS, 2015). O uso de inseticidas e a poluição do ambiente causada por eles são considerados os principais fatores que afetam as abelhas, uma vez que no forrageamento realizado pelas operárias, é possível que entrem em contato com flores contaminadas por esses produtos (WATSON; STALLINS, 2016).

As abelhas são muito sensíveis aos estressores de agrotóxicos porque têm um número limitado de enzimas de desintoxicação em comparação com outros insetos (CLAUDIANOS et al., 2006). As moléculas inseticidas, quando não causam a morte imediata das abelhas, podem afetar negativamente sua orientação e habilidade de voar, dificultando o retorno das abelhas para a colônia, ou quando voltam, levam esses produtos consigo, enfraquecendo e mesmo causando a morte da colônia (AMARO; GODINHO, 2012; CATAE et al., 2018a; TOSI; NIEH, 2017; WOLFF; REIS; SANTOS, 2008). Estudos recentes demonstram vários efeitos subletais causados por pesticidas em abelhas. Dentre esses estudos, a maioria está relacionada ao uso de neonicotinóides (ABDELKADER et al., 2019; AZPIAZU et al., 2019; BEBANE et al., 2019; CHRISTEN; FENT, 2017; COLIN et al., 2019a; DIETZSCH et al., 2019; FENT; SCHMID; CHRISTEN, 2019; GOMES et al., 2019; IQBAL; ALQARNI; RAWEH, 2019a;

JACOB et al., 2019; LIU et al., 2019; MONCHANIN et al., 2019; MORFIN et al., 2019; ROUZÉ et al., 2019; SHI et al., 2019; TAVARES et al., 2017; TESOVNIK et al., 2020; TISON et al., 2019; TOMÉ et al., 2020), seguido por butelanoídes (BELL et al., 2020; HESSELBACH et al., 2020; HESSELBACH; SCHEINER, 2019; TONG; NIEH; TOSI, 2019; TOSI; NIEH, 2017), organofosforados (BLOT et al., 2019; CHRISTEN et al., 2019a; GASHOUT et al., 2020; ROUZÉ et al., 2019; TOMÉ et al., 2019; VÁZQUEZ et al., 2020; YANG et al., 2019) e piretroides (CHRISTEN et al., 2019a; GASHOUT et al., 2020; HESSELBACH et al., 2020; ZHANG et al., 2020a).

O uso de agrotóxicos, não apenas inseticidas, mas também herbicidas, fungicidas e acaricidas, contribuíram para o avanço da agricultura mundial (CARVALHO, 2017). O desenvolvimento e uso desses produtos visa facilitar o manejo das culturas, melhorar a qualidade e aumentar a produção de alimentos. No entanto, o impacto sobre os polinizadores é um fator negativo a ser considerado.

Estudos mostram que as primeiras reduções nas populações de abelhas ocorreram entre os anos 40 e 60, o que coincide com o aumento da produção agrícola intensiva e o aumento do uso de insumos agrícolas (químicos utilizados na agricultura) (GRIXTI et al., 2009). Assim sendo, o número de pesquisas relacionando a utilização de agrotóxicos e as abelhas é crescente. Uma análise dessas pesquisas, utilizando a cienciometria, permite compreender como estes estudos ocorreram nesse espaço de tempo, quais países e instituições demandaram mais esforços e investimentos nesta pesquisa, bem como as revistas científicas mais populares para a divulgação dos resultados, e também as palavras e categorias (exemplo: Entomologia, Toxicologia, Ciências Ambientais, Agronomia e Multidisciplinar, entre outras) mais utilizadas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises cienciométricas são importantes ferramentas para resumir e revelar tendências de pesquisa (HE; ZHANG; ZENG, 2019). Para esta revisão, a busca por publicações foi realizada em todas as bases de dados contidas na plataforma Web of Science (WoS) da Clarivate Analytics (<http://webofknowledge.com>). Esta plataforma foi utilizada por ser considerada a base de dados mais importante e completa, composta pelos principais periódicos científicos do mundo nos mais diversos temas de pesquisa (BOYACK; KLAVANS; BÖRNER, 2005; OLAWUMI;

CHAN, 2018; POURIS, 2012; SONG; ZHANG; DONG, 2016; WANG et al., 2018), e também, porque os resultados do WoS estão prontos para uso no Citespace. Além disso, o manual do software relata que a fonte primária de dados para construir um conjunto de dados para o CiteSpace é a Web of Science (CHEN, 2014) e o Citespace foi designado para esse banco de dados.

Para a pesquisa foram utilizadas como palavras-chave e scripts booleanos: TOPIC: ("pesticide*" OR "herbicide*" OR "insecticide*" OR "fungicide*") AND TOPIC: ("toxicity" OR "mortality" OR "selectivity" OR "survival" OR "longevity") AND TOPIC: ("bee" OR "honeybee" OR "honey-bee"). Essa primeira busca resultou em 2.457 publicações. Após a análise do título, resumo ou artigo completo, as publicações com informações sobre a relação de pelo menos uma espécie de abelha e pelo menos um agrotóxico, foram adicionadas à lista para revisão cienciométrica, sendo excluídos os demais estudos, totalizando 1.253 publicações.

Com a lista de publicações completa, foi utilizada a ferramenta “Analisar resultados” na WoS, onde foram extraídos os dados referentes ao número de registros realizados por país, tipos de documento, publicações por ano, citações por ano, origem e fator de impacto, autores de cada publicação, instituições de pesquisa e categorias. Além disso, na ferramenta “Criar relatório de citações” desta plataforma também foi expresso o fator H e uma lista contendo os 10 trabalhos mais citados. Por fim, o fator de impacto foi obtido no Journal Citation Reports (JCR) (clarivate.com/products/web-of-science).

Os registro da lista marcada contendo títulos, resumos e referências citadas foram exportadas para análise de dados nos softwares Microsoft Office Excel e CiteSpace (CHEN, 2014). No primeiro software foram gerados gráficos quanto relação entre citação e publicação no decorrer dos anos e publicações por países. Enquanto no software CiteSpace foram criados infográficos relacionados aos países, revistas, palavras-chave, instituições de pesquisa e categorias. A utilização do CiteSpace permite a visualização dos resultados de forma mais dinâmica, fazendo uso de métodos matemáticos e estatísticos para descrever, avaliar e prever o estado da arte do tema em questão (HE; ZHANG; ZENG, 2019).

Os infográficos do CiteSpace são formados por linhas que se ligam formando nós a fim de conectar as grandes áreas. Quando ocorre a ligação de dois ou mais nós de uma área, pode-se observar a centralidade do nó (Equação 1), através da formação de um halo roxo em torno da forma, quanto mais espesso o halo, mais forte a ligação.

O software também permite apresentar o local com explosão de citação, também chamado de Burst, que ocorre quando os artigos publicados são bastante citados em um determinado intervalo de tempo, sendo este representado em vermelho no centro da forma (CHEN, 2014).

$$Centrality (node i) = \sum_{i \neq j \neq k} \frac{\rho_{jk(i)}}{\rho_{jk}} \text{ (Equação 1)}$$

Nesta equação $\rho_{jk(i)}$ corresponde ao o número de caminhos que passam pelo nó i e ρ_{jk} ao número de caminhos mais curtos entre o nó j e o nó k . Assim, o indicador de centralidade pode relativizar a importância de cada publicação em uma rede co-citada, ou seja, um nó que possui alto grau de centralidade, pode ser visto como uma "ponte" entre diferentes pesquisas, tendo em vista que está no caminho mais curto entre outros nós (FISCHBACH; PUTZKE; SCHODER, 2011; LI; PORTER; WANG, 2017; OUYANG et al., 2018).

Por fim, foi realizado o teste de correlação de Spearman para verificar se há ligação entre os números de publicações e a produtividade científica com as características geoeconômicas dos países e o número de publicações científicas com uso de agrotóxicos nos países, a 0,05% de significância, por meio do software Statistica (StatSoft, 2007). Para isso, foram obtidos dados de classificação do Produto Interno Bruto (PIB) de cada país, no catálogo de dados do Banco Mundial (<https://datacatalog.worldbank.org/dataset/gdpranking>). Para definir a produtividade científica de cada país, foram utilizados o número de publicações sobre agrotóxicos e abelhas e a população do país, utilizando a equação:

$$Produtividade = \text{número total da produção científica no país} / \text{população} \times 1000$$

Nesta equação número total da produção no país, corresponde ao número de total de publicações científicas sobre agrotóxicos e abelhas avaliadas neste trabalho em cada país, pela população do país. Para isso, dados populacionais foram usados no ano de 2019 contidos no Banco de Dados das Nações Unidas (Perspectivas da população mundial - divisão da população - Nações Unidas <https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/>) (GHISI et al., 2020).

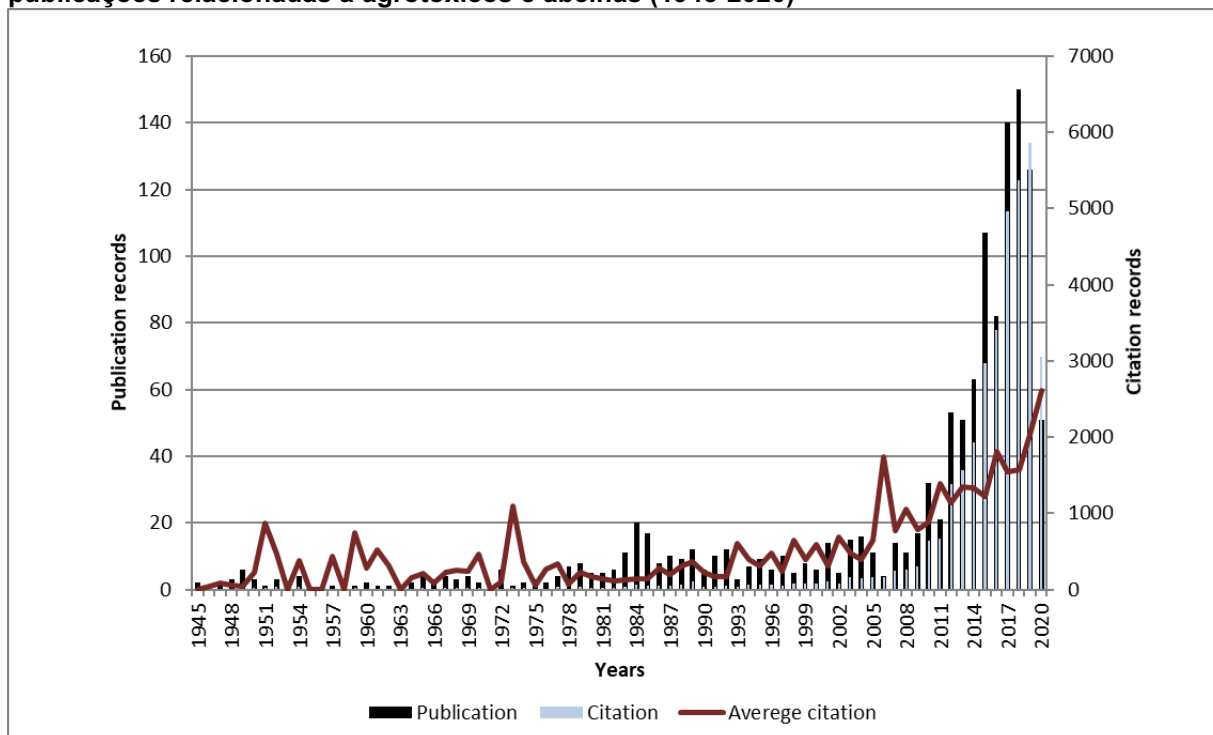
Os dados dos indicadores de agrotóxicos por países foram obtidos na Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/EP/visualize>). Os dados de PIB e uso de agrotóxicos são referentes ao ano de 2018, devido à falta de dados completos para 2019, além disso, foram utilizados 62 países, que possuíam dados completos para todos os parâmetros.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Publicações sobre abelhas e agrotóxicos ao longo do tempo

As publicações são distribuídas entre os anos de 1945 e junho de 2020, tendo crescido nos últimos 15 anos (Figura 2). A maioria dos estudos encontrados são do tipo artigo (86%), seguidos de publicações de procedimentos (8%) e revisões (4%); há também resumos, notas e capítulos de livros, entre outros (2%). O fator H dessas publicações, nesse período, foi de 89. O fator H é um indicador da qualidade da produção científica que avalia a importância do estudo realizado pelos pesquisadores, sendo essas publicações classificadas de acordo com o número de citações. O "H" é o maior número natural, referente aos primeiros "H" artigos que receberam pelo menos "H" citações (HIRSCH, 2005). Ou seja, dentre as publicações avaliadas nesta revisão, 89 delas receberam pelo menos 89 citações, demonstrando a relevância dos trabalhos publicados ao longo dos anos sobre a relação entre agrotóxicos e abelhas.

Figura 2 - Relação entre o número de publicações, citações e média de citações por ano de publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas (1945-2020)



Fonte: Autoria própria (2020)

Nos últimos 15 anos, observou-se um aumento considerável no número de publicações, citações e média de citações por ano (Figura 2). Esse fator pode estar associado ao DCC, que foi relatado pela primeira vez em 2006 nos EUA. Neste, os apicultores relataram perdas variáveis entre 30 e 90% das colônias, sem uma causa aparente (KAPLAN, 2012; RUCKER; THURMAN, 2012). Desde 2006, esse declínio das abelhas também passou a ser observado em outros países. No Brasil, as primeiras observações ocorreram em agosto de 2008 (PIRES et al., 2016). Já a redução de colônias em países europeus, como Bélgica, Estônia, Finlândia, Letônia, Polônia, Portugal, Espanha e Suécia, ocorreu entre 2013 e 2014 (LAURENT et al., 2015).

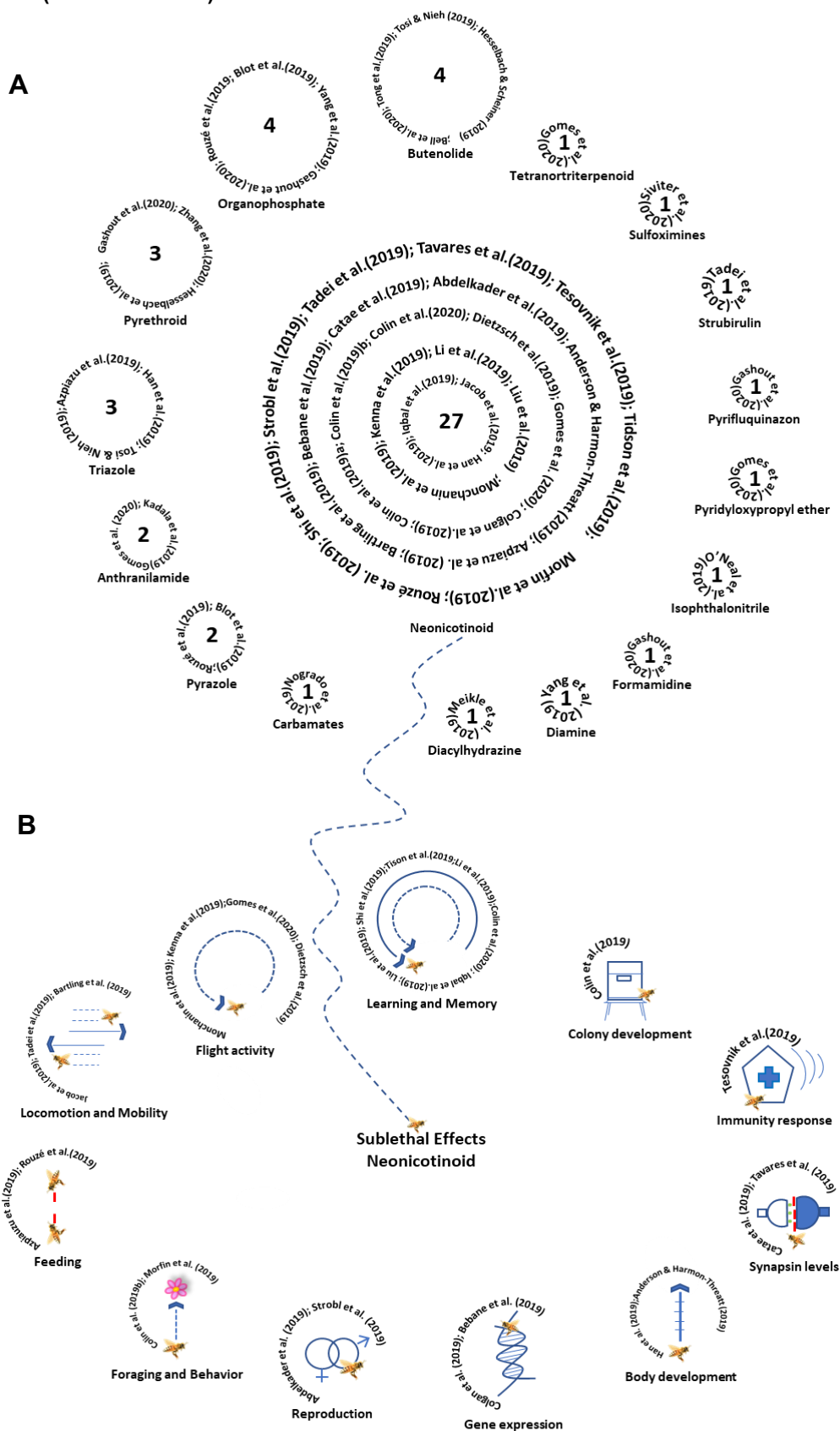
Por ser um fenômeno em que o desaparecimento repentino de abelhas operárias adultas, sem motivo aparente (VANENGELSDORP et al., 2009, 2017), desencadeou um aumento no número de estudos, objetivando determinar as possíveis causas de DCC. A partir desses estudos, observou-se que o declínio no número de abelhas ocasionado pelo DCC pode estar relacionado aos efeitos combinados de interações sinérgicas entre parasitas, patógenos, toxinas e outros

estressores (ALBURAKI et al., 2018; GOULSON et al., 2015; SÁNCHEZ-BAYO et al., 2016).

É importante destacar que foi observado que os inseticidas estão intimamente ligados à mortalidade e ao declínio das populações de abelhas (CHRISTEN; FENT, 2017; MULLIN et al., 2010; POHORECKA et al., 2017; TOMÉ et al., 2019). Assim, desde 2013, os neonicotinoides imidacloprido, tiametoxam e clotianidina foram restritos para uso em estufas na União Europeia, pelo Regulamento de Implementação (UE) N° 485/2013, devido à sua estreita relação com a mortalidade das abelhas (Comissão Europeia 2013).

Nesse sentido, aproximadamente 27% das publicações verificadas nesta pesquisa apontam para estudos relacionados à letalidade causada por agrotóxicos em abelhas. Além de estudos sobre mortalidade, pesquisas complementares têm sido realizadas para determinar os possíveis efeitos subletais desses agrotóxicos sobre esses polinizadores, totalizando 58% do total de estudos verificados ao longo dos anos (de 1945 a 2020). Outros 15% dessas publicações estão relacionadas a outros temas da relação entre agrotóxicos e abelhas, como protocolos, métodos, rotas de exposição, patentes, entre outros. Alguns dos estudos sobre efeitos subletais dos agrotóxicos sobre abelhas, publicados em 2019 e início de 2020, estão listados na Figura 3.

Figura 3 A - Número de estudos (centro do círculo) e autores (anel do círculo) que avaliaram os efeitos subletais de inseticidas em abelhas em 2019–2020 separados por grupo químico (abaixo do círculo) B - Estudos de efeitos subletais de neonicotinoides (centro do círculo) em abelhas por autores (anel de círculo) em 2019-2020



Os efeitos subletais devem ser conhecidos devido aos inúmeros agrotóxicos liberados para uso em culturas agrícolas em todo o mundo. Porém, nem todos produtos químicos causam mortalidade imediata das abelhas, mas podem causar alterações comportamentais e fisiológicas, que levam ao enfraquecimento das colônias e, conseqüentemente, perdas de produtividade e ambientais.

Nota-se que os estudos de efeitos subletais usando neonicotinoides em abelhas foram mais frequentes quando comparados a outros grupos químicos, como butenolidos, organofosfatos, piretroide, triazol, entre outros, no último ano (2019–2020) (Figura 3 A). Além disso, até o ano de 2019, os efeitos dos neonicotinoides nas abelhas representavam, aproximadamente, 45% das publicações na WoS, a respeito do uso desse grupo químico (JACTEL et al., 2019). Isso ocorre porque, dentre outros fatores, os neonicotinoides representam o grupo químico de inseticidas mais utilizados em todo o mundo (ABDELKADER et al., 2019).

3.3.2 Impacto das publicações

O impacto das publicações está relacionado ao número de vezes que as publicações científicas de um determinado periódico foram citadas, demonstrando a importância de um periódico. Para isso é utilizada a soma das citações recebidas pela revista nos dois anos anteriores, dividida pelo número de publicações na mesma revista científica no mesmo período. Essa medida, chamada de fator de impacto, é utilizada como forma de quantificar a qualidade das revistas científicas e torna-se importante por determinar assim, a relevância dos estudos que estão sendo publicados (GARFIELD, 2006). A publicação, sobre a relação entre agrotóxicos e abelhas, mais citada no mundo, se refere ao artigo publicado em 2007, na revista científica *Annual Review of Entomology*, de Desneux et al. (2007) (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007), intitulado “*The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods*” com 1.478 citações. A segunda publicação mais citada é o artigo “*Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers*” de Goulson et al. (2015) (GOULSON et al., 2015), publicado no jornal científico *Science*, que já recebeu 985 citações (Tabela 1). As publicações mais citadas do ranking desta pesquisa compõem um grupo de 10 artigos que permitem um direcionamento técnico e profundo do tema.

Tabela 1 - Ranking das publicações mais citadas relacionando agrotóxicos e abelhas com título, autores, periódico científico, ano de publicação, total de citações e média por ano, de acordo com Web of Science (2020)

Ranking	Título	Autores	Título da fonte	Ano	Total de citações	Média por ano	Citação
1°	The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods	Desneux, Nicolas; Decourtye, Axel; Delpuech, Jean-Marie	ANNUAL REVIEW OF ENTOMOLOGY	2007	1435	102.5	DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007
2°	Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers	Goulson, Dave; Nicholls, Elizabeth; Botias, Cristina; Rotheray, Ellen L.	SCIENCE	2015	918	153	GOULSON et al., 2015
3°	A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees	Henry, Mickael; Beguin, Maxime; Requier, Fabrice; Rollin, Orianne; Odoux, Jean-Francois; Aupinel, Pierrick; Aptel, Jean; Tchamitchian, Sylvie; Decourtye, Axel	SCIENCE	2012	656	72.89	HENRY et al., 2012
4°	High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health	Mullin, Christopher A.; Frazier, Maryann; Frazier, James L.; Ashcraft, Sara; Simonds, Roger; vanEngelsdorp, Dennis; Pettis, Jeffery S.	PLOS ONE	2010	646	58.73	MULLIN et al., 2010
5°	Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production	Whitehorn, Penelope R.; O'Connor, Stephanie; Wackers, Felix L.; Goulson, Dave	SCIENCE	2012	573	63.67	WHITEHORN et al., 2012
6°	Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment	Blacquiere, Tjeerd; Smagghe, Guy; van Gestel, Cornelis A. M.; Mommaerts, Veerle	ECOTOXICOLOGY	2012	451	50.11	BLACQUIÈRE et al., 2012
7°	Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees	Gill, Richard J.; Ramos-Rodriguez, Oscar; Raine, Nigel E.	NATURE	2012	441	49	GILL; RAMOS-RODRIGUEZ; RAINE, 2012
8°	Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields	Krupke, Christian H.; Hunt, Greg J.; Eitzer, Brian D.; Andino, Gladys; Given, Krispn	PLOS ONE	2012	391	43.44	KRUPKE et al., 2012
9°	Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees	Rundlof, Maj; Andersson, Georg K. S.; Bommarco, Riccardo; Fries, Ingemar; Hederstrom, Veronica; Herbertsson, Lina; Jonsson, Ove; Klatt, Bjorn K.; Pedersen, Thorsten R.; Yourstone, Johanna; Smith, Henrik G.	NATURE	2015	373	62.17	RUNDLÖF et al., 2015
10°	Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, <i>Apis mellifera</i>	Iwasa, T; Motoyama, N; Ambrose, JT; Roe, RM	CROP PROTECTION	2004	365	21.47	IWASA et al., 2004

Fonte: Aatoria própria (2020)

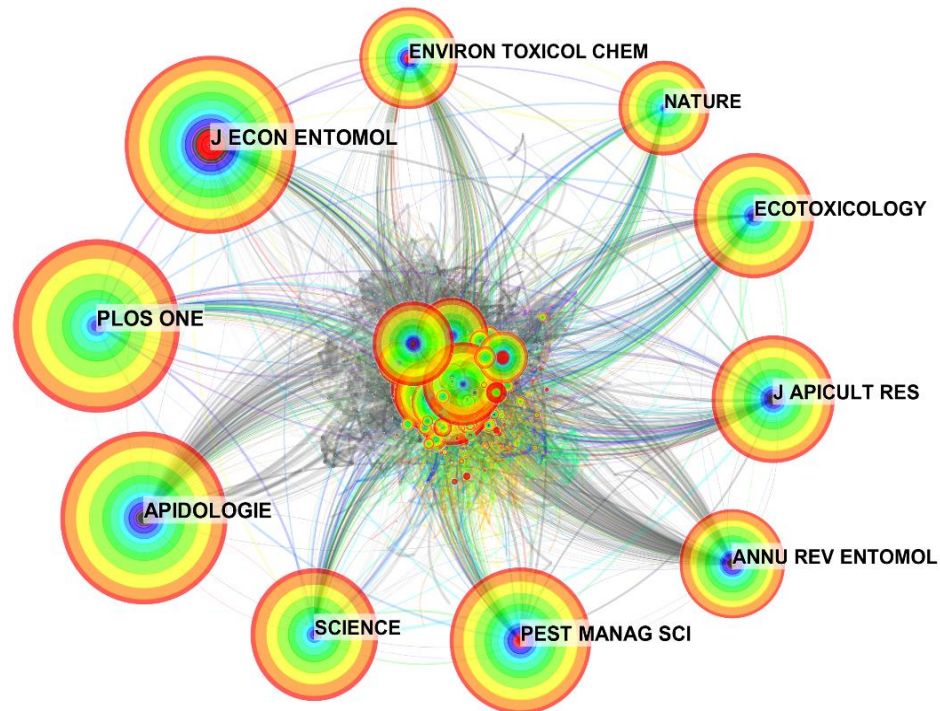
O artigo “*The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods*” de Desneux et al. (2007) (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007) é uma revisão bibliográfica que relata os mais variados efeitos subletais de pesticidas na fisiologia (bioquímica geral e neurofisiologia, desenvolvimento larval, longevidade adulta, imunologia, fertilidade, proporção sexual) e comportamento (mobilidade, orientação, alimentação, oviposição e desempenho de aprendizagem) de artrópodes benéficos, como abelhas e inimigos naturais. Por apresentar uma combinação de dados de diversos estudos, este artigo tornou-se relevante e base para estudos com esses grupos entomológicos.

O segundo estudo mais citado “*Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers*” de Goulson et al., (2015) (GOULSON et al., 2015), é também uma revisão bibliográfica que aborda cada um dos possíveis estressores que estão causando o declínio das populações de abelhas e enfatiza a importância do monitoramento para que, no futuro, haja um manejo eficaz desses insetos. Por ser um tema que gera preocupação entre pesquisadores da área e apicultores, e conter informações de grande relevância científica, tem recebido especial atenção.

As 10 revistas que tiveram seus trabalhos sobre a relação entre agrotóxicos e abelhas mais citadas estão relacionadas Figura 4. Dentro desse tema, para cada revista destaca-se sua frequência (número de publicações representado na figura pelo tamanho do nó), centralidade (influência representada na figura pelo halo roxo), Hald-life, Burst (explosão de citação representada na figura pelo centro vermelho) (CHEN, 2014) e fator de impacto.

Figura 4 A - Revistas científicas com as publicações mais citadas sobre a relação entre agrotóxicos e abelhas B - Classificação da revista científica quanto de frequência e fator de impacto Journal Citation Reports (JCR) em 2019

A



B

Jornal científico	Frequência	Centralidade	Half-life	Burst	Fator de Impacto
Journal of Economic Entomology	774	0,08	70	48,53	1,779
Apidologie	713	0,05	40		2,250
PLoS ONE	662	0,00	7		2,776
Pest Management Science	576	0,00	13	9,91	3,255
Journal of Apicultural Research	527	0,05	47		1,752
Science	525	0,02	69		41,037
Ecotoxicology	496	0,02	17		2,460
Annual Review of Entomology	488	0,16	50	6,09	11,796
Environmental Toxicology and Chemistry	409	0,01	25	8,03	3,421
Nature	374	0,01	67		43,070

Fonte: Autoria própria (2020)

Journal of Economic Entomology destaca-se como a revista científica com maior número de citações neste tema (784) e também com maior explosão de citações (Burst: 46,38). Além da frequência de citações de suas publicações, a centralidade é outro fator de extrema relevância. Ressalta-se que a *Annual Review of Entomology* tem maior centralidade (0,15) entre as 10 revistas científicas mais citadas que relacionam agrotóxicos e abelhas. A maior centralidade está diretamente associada à maior influência que esta fonte exerce sobre o tema em questão.

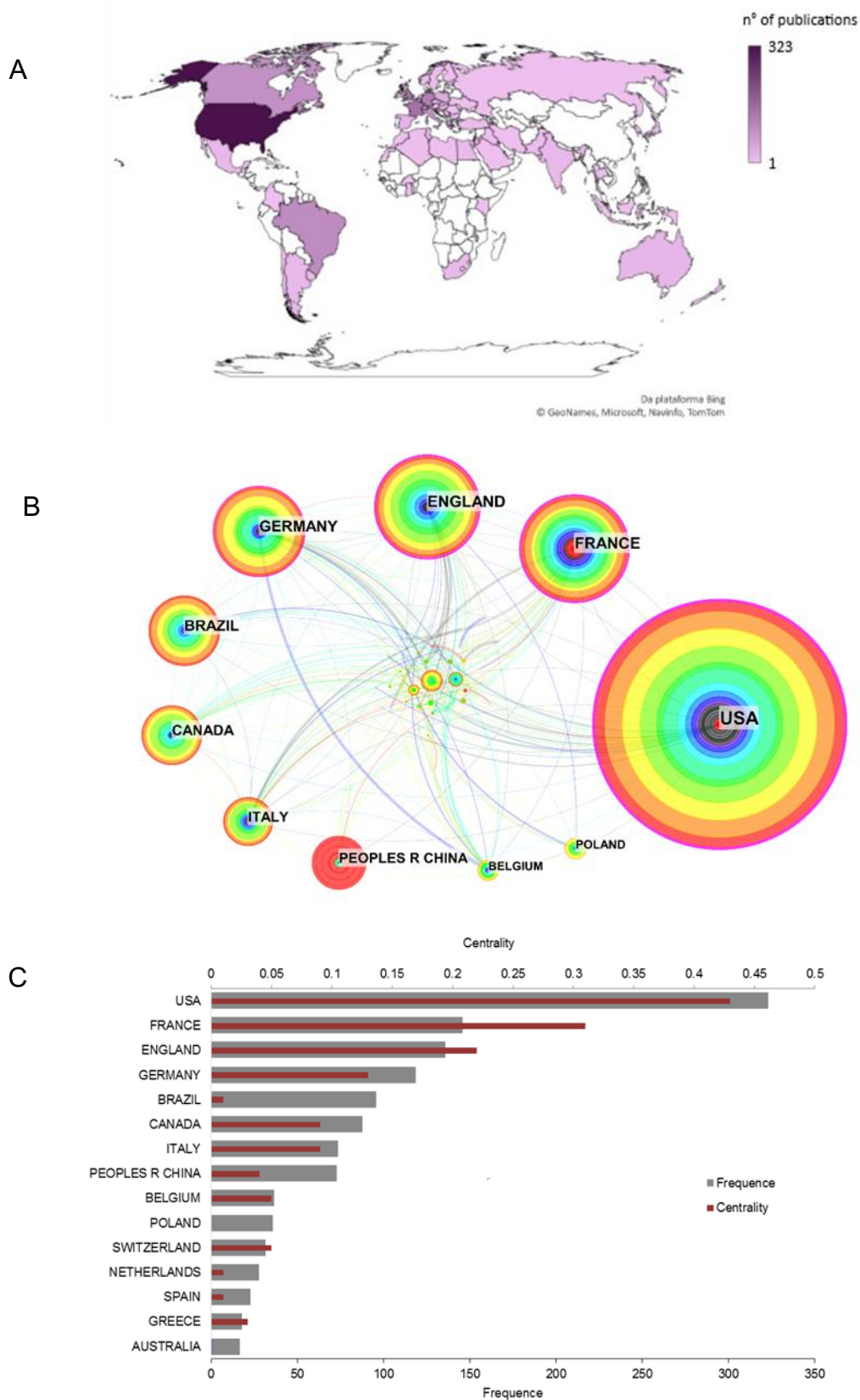
A revista científica *Annual Review of Entomology* possui ainda, alto fator de impacto (11,796), o que confirma a importância da revista para a área de Entomologia, Toxicologia e áreas correlatas. O fator de impacto é uma métrica criada em 1961 por Garfield e Sher com intuito de ajudar os autores na seleção de periódicos para a publicação de suas pesquisas e dar possibilidades para revistas pequenas serem vistas. O fator de impacto retrata o número médio de citações de artigos publicados em um referido periódico em um período de 2 anos (GARFIELD, 2006). Além disso, *Annual Review of Entomology* está entre as revistas científicas que apresentam explosão de citações neste tema, com um Burst de 6,08 e conta com o artigo “*The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods*” (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007), que é o mais citado quando o assunto é agrotóxicos e abelhas (Tabela 1).

O idioma inglês é o principal nessa área de estudo, com 1.223 publicações analisadas neste idioma, o que corresponde a 98%. As línguas francesa e alemã ocupam o segundo e o terceiro lugar em número de publicações, com nove registros cada (0,73%), seguidas da língua polonesa com sete registros (0,57%). Os demais idiomas possuem no máximo um registro cada (0,081%). O fato da língua inglesa ter prevalecido nas publicações do presente base de dados, já era esperado, tendo em vista que este é o idioma oficial de alguns dos países que mais publicaram sobre o assunto, e também por ser o idioma mais utilizado no meio científico (SCHUERMANS; MEEUS; DE MAESSCHALCK, 2010).

3.3.3 Relação entre pesquisa e PIB de diferentes países

Os EUA apresentam o maior número de registros de publicações (323), seguidos da França (146), Inglaterra (136), Alemanha (119) e Brasil (96) (Figura 5).

Figura 5 A - Número de publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas distribuídas geograficamente B - Países / regiões com mais publicações na Web of Science (WoS) e com uma explosão de citações relacionadas a agrotóxicos e abelhas C - Os 15 principais países / regiões com frequência e centralidade



Fonte: Autoria própria (2020)

Além de se destacarem pelo número de publicações, EUA, França e Inglaterra também lideram no quesito centralidade, com pontuações de 0,43, 0,31 e 0,22, respectivamente, demonstrado com anéis roxos na Figura 4 B. A centralidade representa seu alto grau de engajamento com outros países, bem como sua influência na comunidade acadêmica.

Alguns países foram detectados com um burst de citação (representado pelo centro do nó vermelho na Figura 5 B, como é o caso dos EUA (12,31), China (9,60) e França (8,56). O nó vermelho demonstra que existem publicações desses países que chamam a atenção da comunidade científica e que o número de citações destas vem aumentando rapidamente e ganhando destaque.

A relevância dessas publicações foi comprovada quando, entre os 10 artigos mais citados (Tabela 1), quatro deles são dos Estados Unidos (1º, 4º, 8º e 10º colocados no ranking), três da Inglaterra (2º, 5º e 7º colocados no ranking), e dois da França (1ª e 3ª colocados no ranking). Sabe-se que em vários países houve declínio do número de abelhas, o que alarmou a comunidade científica e produtora, mas a pesquisa se concentrou nos EUA e na Europa (TEICHROEW et al., 2016).

Entre os países, os EUA lideram todas as métricas analisadas referentes as pesquisas sobre agrotóxicos e abelhas. Isso pode estar relacionado ao fato de que desde 1947 o declínio das colônias de abelhas *Apis* foi relatado neste país (ELLIS, 2012). Após o Conselho Nacional de Pesquisa, em 2007, cobrar informações básicas sobre a situação de polinizadores na América do Norte (National Academy of Sciences, 2007), estudos foram realizados em diversas áreas potenciais de habitat desses seres vivos (ZARRILLO; STONER, 2019). Em 2017, os apicultores observaram perdas anuais de até 40% de suas colônias, trazendo também efeitos econômicos para o país (KULHANEK et al., 2017). O declínio das espécies nativas tem atraído a atenção do país, estimulando o interesse pelo *status* dessas espécies nos ecossistemas (ZARRILLO; STONER, 2019).

Na Europa, há relatos de perdas de 30% das colônias de *Apis* anualmente (PIRK et al., 2014), assim estima-se que 9,2% das espécies de abelhas nativas e naturalizadas estejam em declínio (NIETO et al., 2014). Desde o início dessas perdas, estudos são realizados pelos países europeus e em parceria com demais países, ganhando destaque na comunidade científica e servindo de referência para novas pesquisas. Isto pode ser visto quando, entre os dez artigos mais citados em relação

aos agrotóxicos e abelhas (Tabela 1), o 1º, 2º, 3º, 5º, 6º, 7º e 9º colocados no ranking foram realizados por países europeus ou em cooperação com outro país.

Os estudos com polinizadores no Brasil foram intensificados no final da década de 90. Após a reunião “Conservação e Uso Sustentável de Polinizadores na Agricultura, com Ênfase nas Abelhas”, firmou-se compromisso com a Convenção sobre Diversidade Biológica (BPBES, 2019). O país contribui com estudos sobre polinizadores, porém, a falta de monitoramento de longo prazo dos polinizadores dificulta a estimativa de perdas e manutenção da população de abelhas (GIANNINI et al., 2017).

O Brasil é um dos maiores produtores de alimentos do mundo, com variedade de espécies, de frutas e de grãos, tanto nativos quanto exóticos, com adaptações às condições climáticas favoráveis do país (TANIWAKI et al., 2019). Porém, a produtividade dessas lavouras é comprometida pelo declínio dos polinizadores.

Na China, as perdas de colônias de *Apis* variam de 3 a 13% (CHEN et al., 2017a) e esse pode ser um dos motivos pelo qual este país está no ranking, junto com os EUA, em número de pesquisas e citações. A China é o maior produtor de mel do mundo, com mais de oito milhões de colmeias manejadas e uma diversidade de abelhas que está em risco e apresenta problemas para culturas dependentes de polinização (TEICHROEW et al., 2016). Neste país, a polinização artificial já é adotada, principalmente em pomares de peras, para reduzir problemas que afetam a cultura quando a polinização não é feita (YUAN et al., 2016).

Com base nos dados de publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas por país, foi realizada uma correlação com a população, PIB e quantidade de pesquisas, a fim de determinar se as publicações são influenciadas por fatores econômicos e geográficos (Tabela 2). O número de publicações e população não estão relacionados ($p = 0.0968$), entretanto PIB e publicações ($p = 0,0001$), além de estar moderadamente correlacionado ($r = 0.8036$), refletem adequadamente o uso dessas características para indicar a importância econômica dessas obras ($r^2 = 0.6458$). O PIB per capita e o número de publicações foram ligeiramente relacionados ($r = 0.2955$; $p = 0.0197$), indicando novamente que a inserção da população, direta ou indiretamente (PIB per capita) não contribui para um melhor entendimento da temática do trabalho proposto ($r^2 = 0.0461$; $r^2 = 0.0873$). Apesar do crescente número de estudos sobre a ação dos agrotóxicos sobre as abelhas, a representatividade do tema, dado o porte populacional, ainda é extremamente baixa. Como as abelhas têm

importância econômica na agricultura mundial, que está causalmente ligada à população, justificam-se maiores investimentos em pesquisas sobre o tema.

Tabela 2 - Correlação entre o número total de publicações e os índices econômicos e demográficos dos países e o uso de agrotóxicos

Variável 1	Variável 2	r	r ²	p
Número de publicações	População	0,2147	0,0461	0,0968
	PIB	0,8036	0,6458	0,0001*
	PIB per capita	0,2955	0,0873	0,0197*
Produtividade	População	-0,1685	0,0284	0,1906
	PIB	-0,0102	0,0001	0,9375
	PIB per capita	0,4259	0,1814	0,0006*
Uso de agrotóxicos	Número de publicações	0,1267	0,0160	0,3307
	Produtividade	0,0324	0,0011	0,8040
	PIB	0,2451	0,0601	0,0568
	PIB per capita	0,2985	0,0891	0,0194*

*Significativa a 0,05% de probabilidade de erro pela correlação de Spearman

(0,00 < r < 0,25: correlação pequena ou nenhuma; 0,26 < r < 0,49: correlação baixa; 0,50 < r < 0,69: correlação moderada; 0,70 < r < 0,89: correlação alta; 0,90 < r < 1,00: correlação muito alta); PIB = Produto Interno Bruto

Fonte: Autoria própria (2020)

Quando se verificou a correlação entre produtividade e população dos países, e produtividade e PIB, não houve influência entre esses fatores ($p = 0,1906$ e $p = 0,9375$). Produtividade e PIB per capita apresentam baixa correlação ($r = 0,4259$; $p = 0,0006$) por meio de um modelo ajustado para $r^2 = 0,1814$; entretanto, indica que em países onde há igualdade econômica da população, há maior investimento em pesquisas relacionadas à ação dos agrotóxicos sobre as abelhas.

Também foram analisados os dados de publicações, produções científicas e indicadores geoeconômicos à utilização de agrotóxicos por países. Assim, ao fazer análise de correlação entre o número de publicações referentes a relação entre agrotóxicos e abelhas por países e o uso de agrotóxicos, verifica-se que não foi encontrada correlação entre esses dois fatores ($p = 0,3307$), ou seja, o número de publicações não está diretamente relacionado ao uso de pesticidas padronizados nos bancos de dados da FAO. Além disso, a produtividade científica dos países não está correlacionada com a utilização de agrotóxicos ($p = 0,8040$). A utilização de pesticidas não está ligada aos estudos dos efeitos em polinizadores por meio dos registros

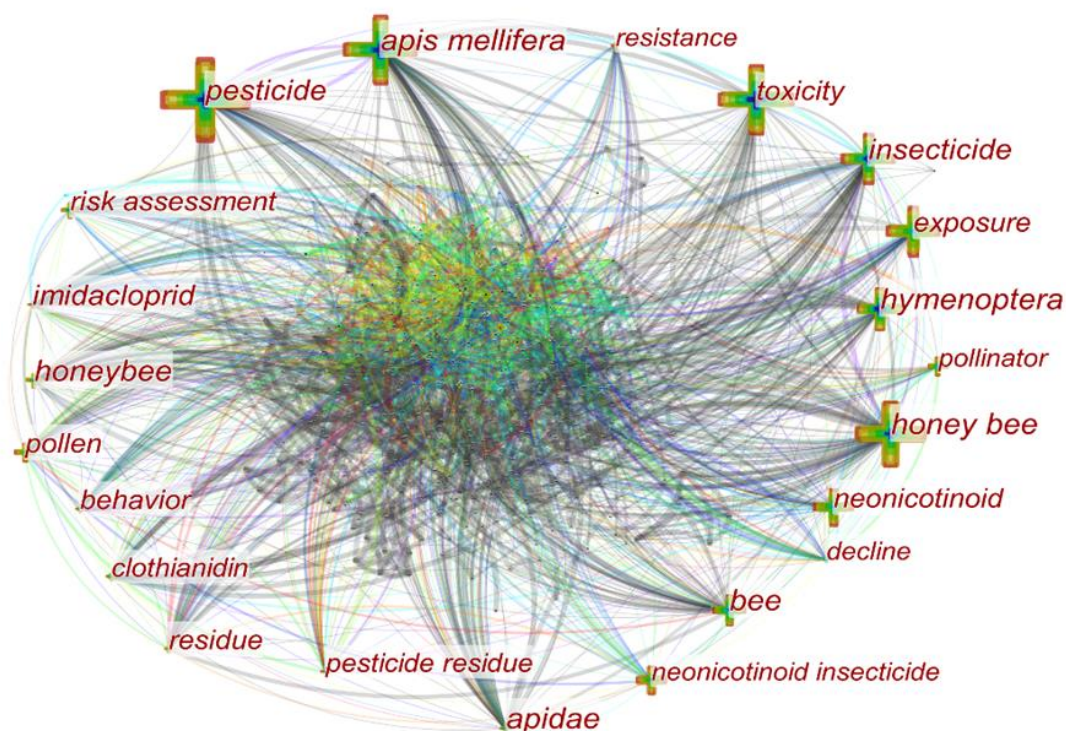
disponíveis, indicando que a relação dos temas tem recebido ainda atenção oficial (registrado e divulgado) insuficiente dado sua grande importância.

Por fim, observou-se que a maior utilização de pesticidas por país não tem relação direta, seja com PIBs maiores ou menores ($p = 0,0568$). Isso pode ser explicado pelo fato de que para a contagem do PIB considera-se apenas bens e serviços finais, excluindo da conta todos os bens de consumo intermediário. No entanto, o uso de agrotóxicos parece influenciar a qualidade de vida nos países ($r = 0,2985$; $p = 0,0194$) de maneira que esta relação ainda precisa ser mais bem estudada ($r^2 = 0,0891$).

3.3.4 Perfil de pesquisa

As palavras-chave utilizadas com mais frequência nas publicações podem ser vistas na Figura 6. Quando classificadas, as 15 mais usadas foram: Pesticide (369), *Apis mellifera* (322), toxicity (318), honey bee (301), insecticide (239), exposure (220), hymenoptera (204), neonicotinoid (171), bee (168), neonicotinoid insecticide (124), pollen (111), honeybee (108), pollinator (106), risk assessment (94), e apidae (87).

Figura 6 - Palavras-chave mais utilizadas em publicações relacionadas a agrotóxicos e abelhas



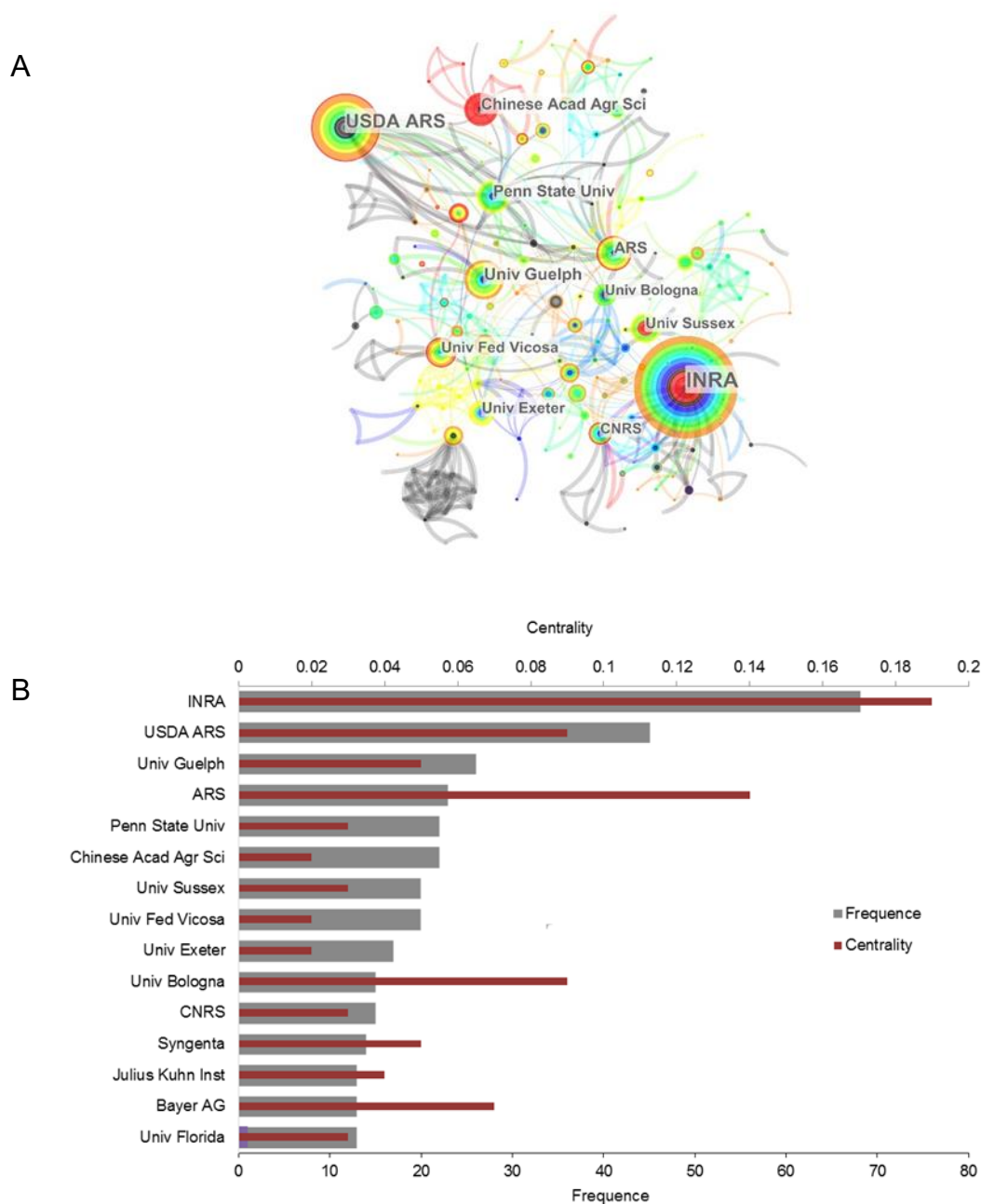
Fonte: Autoria própria (2020)

Levando em consideração que o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão cientométrica sobre a relação entre agrotóxicos e abelhas, já se esperava que a primeira palavra-chave “pesticide” reunisse todos os tipos de produtos fitossanitários sintéticos (inseticida, fungicida, herbicida, acaricida). A segunda palavra-chave, “*Apis mellifera*”, é a abelha mais conhecida e estudada, além disso esta espécie é um importante polinizador e bioindicador, ganhando destaque nas pesquisas com produtos fitossanitários sintéticos ou naturais (ARENA; SGOLASTRA, 2014; CELLI; MACCAGNANI, 2003; DAI et al., 2019; GOULSON et al., 2015; HUNG et al., 2018; QUIGLEY; AMDAM; HARWOOD, 2019). A importância é destacada no número de estudos envolvendo esse gênero (*Apis*), que corresponde a 70% das publicações na área. Sequencialmente, 8% das pesquisas que relacionam abelhas e pesticidas são sobre o gênero *Bombus*, 4% sobre o gênero *Megachile*, 3% sobre *Osmia*, 2% sobre *Melipona* e *Scaptotrigona* e 2% sobre outros gêneros de abelhas. O elevado número de publicações utilizando o gênero *Apis*, possivelmente está relacionado ao fato da espécie *A. mellifera* possuir fácil manejo e a possibilidade de

nidificar em caixas, o que permitiu que as colônias de abelhas fossem transportadas por humanos garantindo a expansão territorial dessa espécie (LECLERCQ; GENGLER; FRANCIS, 2018). Assim, essa espécie é o visitante floral mais frequentemente encontrado em culturas manejadas e sistemas naturais em todo o mundo, devido à sua distribuição geográfica e seu hábito de forrageamento generalista (HUNG et al., 2018), além de produzir mel, própolis, apitoxina, cera e geleia real que podem ser comercializados (VIUDA-MARTOS et al., 2008) e, assim, estimular a apicultura. Outro fator que pode estar relacionado ao maior número de publicações com *Apis*, é que este gênero de abelha é o mais propenso a parasitas e doenças (GENERSCH, 2010), por isso, são estudadas as possíveis interferências de produtos químicos utilizados para o controle destes sobre as abelhas. Seu fácil manejo, quando comparado a outras espécies de abelhas, também favorece sua exploração em métodos científicos. Além disso, essas abelhas são consideradas menos suscetíveis à agrotóxicos do que as não *Apis*, e seus efeitos letais, em alguns casos, podem ser utilizados como referência para as espécies com maior sensibilidade a produtos químicos (CRESSWELL et al., 2012; HEARD et al., 2017).

As instituições que lideraram o número de publicações foram o Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) localizado na França, seguido pelo The Agricultural Research Service (ARS) e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) (Figura 7). A liderança do INRA em número de publicações deve-se à relevante área de pesquisa em abelhas e meio ambiente desenvolvida por este instituto de pesquisa. A área de pesquisa apícola do INRA está subdividida em três temas: biologia e proteção de abelhas, polinização e ecologia de abelhas, e toxicologia ambiental. E possui como objetivo a promoção do conhecimento e a busca de novos meios de proteção e conservação das abelhas, através da multidisciplinaridade em ecologia, toxicologia, fisiologia e biologia comportamental, por meio de pesquisas que vão desde a biologia molecular ao mapeamento de territórios (INRA, 2020).

Figura 7 A - Instituições com mais publicações na Web of Science e com uma explosão de citações relacionando agrotóxicos e abelhas B - As 15 principais instituições com frequência e centralidade



Fonte: Autoria própria (2020)

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) é a instituição responsável por monitorar a apicultura do país e controlar a saúde das abelhas por meio de planos anuais (USDA, 2020). Assim, as pesquisas são realizadas concomitantemente, buscando responder as causas e consequências dos resultados encontrados, bem como tornar o monitoramento cada vez mais completo. Desde

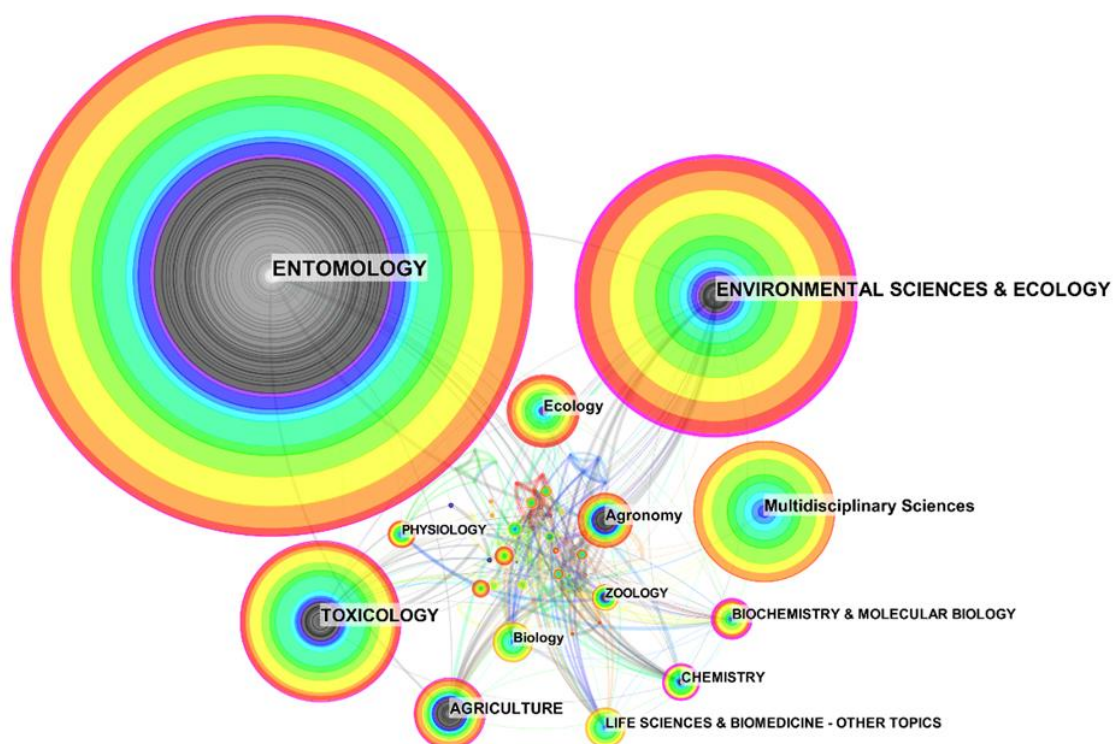
2009, a pesquisa financiada pelo Serviço de Inspeção de Saúde Vegetal de Animais do USDA (APHIS) monitora doenças e pragas das abelhas, tornando esta a pesquisa mais abrangente no campo (USDA, 2020).

A França se destaca pelo número de publicações, centralidade e explosão de citações. Este país reaparece com uma das suas instituições (INRA) tendo o maior número de estudos, a maior centralidade (0,20) e uma explosão de citação de 4,82 que ocorreu entre 1992 e 2006. O expressivo resultado obtido por esta instituição de pesquisa está relacionado, entre outros fatores, pelos trabalhos desenvolvidos por Yves Le Conte. Este pesquisador trabalha na instituição desde o início dos anos 1990, desenvolvendo pesquisas sobre mecanismos, evolução e distúrbios da regulação social nas colônias e no parasita de abelhas, *Varroa destructor*. Além disso, nos últimos anos, estudos têm sido realizados com o objetivo de compreender os fatores responsáveis pelo declínio das populações de abelhas, com abordagens em níveis fisiológico, comportamental, ecológico, patológico e ecotoxicológico, tanto em escala experimental quanto em paisagem. Entre os anos de 2016 e 2019, este pesquisador teve 38 trabalhos publicados na área (LE CONTE, 2020).

A explosão de citação mais recente ocorreu entre 2017 e 2020 com um valor de 4,54 na Chinese Academy of Agricultural Sciences, no entanto, o mais forte ocorreu na University of Sussex, na Inglaterra, entre 2015 e 2017 com uma força de 6,45. Goulson et al. (2015) (GOULSON et al., 2015) teve o segundo artigo mais citado (*Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers*) nesta área, segundo a cienciometria (Tabela 1), é afiliado à Universidade de Sussex e, com isso, contribuiu para esse burst. Este artigo recebeu 918 citações e 342 ocorreram no período de 2015 a 2017.

Além das instituições que mais tem se dedicado ao estudo, outro fator importante a ser considerado é a categoria em que estão sendo publicadas as pesquisas relacionando agrotóxicos e abelhas (Figura 8). Verifica-se que Entomologia (Entomologia) é a área com maior número de publicações, correspondendo a 47%, seguida por *Environmental Sciences & Ecology* (Ciências e Ecologia Ambiental) (37%) e *Toxicology* (Toxicologia) (15%). Isso mostra que são áreas de pesquisa mais ativas quando se trata de toxicologia de agrotóxicos para abelhas.

Figura 8 - Categorias com maior número de publicações relacionadas a pesticidas e abelhas



Fonte: Autoria própria (2020)

Esta revisão aborda a relação de agrotóxicos usados na agricultura com abelhas, que são os principais agentes polinizadores de culturas, as quais ocasionam melhoria da produção. Embora esse contato ocorra no meio agrícola, as publicações dessa categoria não são tão expressivas, tanto em termos de frequência quanto de centralidade. Mesmo assim, os resultados obtidos quanto às categorias em que se encontram os trabalhos publicados em relação à ação dos agrotóxicos sobre as abelhas, bem como as palavras-chave, também eram esperados. Entomologia é a ciência que estuda os insetos, classe a que pertencem as abelhas e, apesar de liderar a frequência de estudos (587), sua centralidade (0,16) é baixa quando comparada à categoria Ciências Ambientais e Ecologia (0,47) que lidera esta métrica e refere-se ao estudo do meio ambiente, ou seja, a área onde ocorrem os estudos entre agrotóxicos e abelhas. Isso se deve ao fato de que a centralidade demonstra o engajamento e a influência das publicações e a categoria ciências ambientais e ecologia é muito mais ampla que a entomologia, pois abrange mais fatores, o que facilita seu engajamento com os demais.

3.4 CONCLUSÃO

Os estudos sobre a ação dos agrotóxicos nas abelhas estão se tornando cada vez mais relevantes e têm aumentado consideravelmente nos últimos 15 anos, tendo em vista a já destacada importância desses polinizadores nos agroecossistemas e o alerta de agrotóxicos para o manejo de culturas agrícolas. Os Estados Unidos da América se destacam em todas as métricas analisadas sobre o estado das pesquisas da relação entre agrotóxicos e abelhas, com destaque também para França e Inglaterra. As instituições mais atuantes também se encontram nesses países (INRA - França, USDA - EUA). O artigo mais citado na área pertence ao cientista Desneux et al. (2007), o qual foi publicado na *Annual Review of Entomology*, que também teve uma centralidade de 0,16 e um *burst* de 6,09.

Em geral, sabendo que os agrotóxicos estão relacionados à mortalidade das abelhas e possivelmente ao DCC, torna-se necessário conhecer mais profundamente os efeitos letais e subletais dos produtos químicos utilizados na agricultura, sobre os insetos benéficos, portanto, a tendência é que as publicações e citações na área continuem crescendo. Além disso, espera-se com este estudo que mais pesquisas possam ser subsidiadas para a realização de técnicas de manejo mais sustentáveis para diferentes agroecossistemas. Este estudo também pode subsidiar e apoiar tecnicamente um banco de dados, atualizado, público e disponível para consulta online sobre estudos dos efeitos dos agrotóxicos nas abelhas. Destaca-se por fim, a necessidade de investir no financiamento de pesquisas relacionadas aos efeitos subletais que os agrotóxicos podem causar nas abelhas.

4 EFEITOS SUBLETAIS OCASIONADOS POR NEONICOTINOIDES EM *Apis mellifera* L. (HYMENOPTERA: APIDAE)

4.1 INTRODUÇÃO

O avanço na agricultura mundial possibilitou o aumento da produção de alimentos, conseqüentemente, houve uma ampliação no desenvolvimento e na utilização de produtos químicos para o manejo das culturas (CARVALHO, 2017). No entanto, quando os agrotóxicos são aplicados em excesso e/ou de maneira incorreta podem ocasionar danos aos agroecossistemas. Um exemplo disso é a perda da biodiversidade e a contaminação ambiental e humana (PINTO et al., 2020; SINGH et al., 2017), além disso, o uso indiscriminado de inseticidas pode estar relacionado a resistência de alguns insetos (PIZZAIA et al., 2021; SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012; TOMASETTO et al., 2017), e também, ao declínio na população de insetos benéficos, como os polinizadores (GILL; RAMOS-RODRIGUEZ; RAINE, 2012; GOULSON et al., 2015; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014; WAGNER, 2020).

Com a intensificação da produção agrícola entre as décadas de 40 e 60, também houve os primeiros relatos sobre a redução em populações de abelhas (GRIXTI et al., 2009). Porém, apenas a partir do ano de 2006, com a ocorrência do fenômeno denominado como Desordem do Colapso das Colônias (DCC) é que estudos sobre a influência de produtos fitossanitários sintéticos sobre abelhas foram acentuados. Na DCC as abelhas adultas desaparecem, abandonando sua cria, seu alimento, sua colônia, além de não ocorrer a presença de abelhas mortas nas proximidades (KAPLAN, 2012; VANENGELSDORP et al., 2009). Além disso, os inseticidas estão intimamente relacionados com a mortalidade de abelhas, cujos resíduos são encontrados em abelhas mortas, em cera e no mel (CALATAYUD-VERNICH et al., 2018; MULLIN et al., 2010; POHORECKA et al., 2017).

A sobrevivência da colônia de abelhas pode ser comprometida, uma vez que em menores doses, os inseticidas não causam a mortalidade imediata das abelhas, mas podem causar alterações comportamentais e fisiológicas (BLACQUIÈRE et al., 2012; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). Nesse sentido, além de estudos relacionados à mortalidade de abelhas, passaram a ser realizadas pesquisas complementares para determinação de possíveis efeitos subletais destas inseticidas sobre estes polinizadores (ABDELKADER et al., 2019; AZPIAZU et al., 2019; BEBANE

et al., 2019; CHRISTEN et al., 2019a; COLIN et al., 2019b; IQBAL; ALQARNI; RAWEH, 2019b; MONCHANIN et al., 2019; ROUZÉ et al., 2019; SHI et al., 2019; TESOVIK et al., 2020, 2019; TISON et al., 2019).

O foco em abelhas tem sido acentuado devido ao declínio destes insetos em diversos países e em diversas culturas (PIRES et al., 2016; POHORECKA et al., 2017). Especialmente em relação a *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) tem-se maior preocupação, por ser cosmopolita e por destacar-se no processo de polinização, serviço essencial para a manutenção dos agroecossistemas (HUNG et al., 2018; WINFREE; GROSS; KREMEN, 2011).

Dentre os inseticidas que causam efeitos negativos em abelhas, destacam-se os neonicotinoides. Os inseticidas deste grupo químico são agonistas dos receptores colinérgicos nicotínicos de insetos e provocam superestimulação, perturbando o sistema nervoso central dos insetos (GALLO et al., 2002; MATSUDA et al., 2001; TOMIZAWA; CASIDA, 2005; VAN DER SLUIJS et al., 2013).

Até o ano de 2019, as publicações relacionadas abelhas e neonicotinoides, correspondiam a, aproximadamente, 45% das publicações na Web of Science referentes a utilização deste grupo químico (JACTEL et al., 2019). Além disso, como observado no capítulo anterior, no último ano (2019/2020) foi o grupo químico de agrotóxico com maior número de publicações relacionadas a efeitos subletais em abelhas. Nós revisamos os efeitos subletais de inseticidas neonicotinoides em abelhas da espécie *A. mellifera* descritos em artigos completos publicados em jornais científicos, e os dividimos em efeitos na fisiologia e efeitos no comportamento. Esta revisão tem como objetivo compilar os efeitos subletais relacionados à exposição de *A. mellifera* a neonicotinoides, separando em três grandes grupos: fisiologia, desempenho da colônia e comportamental.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta revisão de literatura foi conduzida de acordo com as recomendações dos Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (MOHER et al., 2009; PRISMA, 2015). Para esta revisão, a busca de publicações foi realizada em todas as bases de dados contidas no Web of Science (WoS) da Clarivate Analytics (<http://webofknowledge.com>). Esta plataforma foi utilizada por conter a base de dados

mais importante e completa, integrada pelas principais revistas científicas do mundo nos mais diversos tópicos de pesquisa (BOYACK; KLAVANS; BÖRNER, 2005; OLAWUMI; CHAN, 2018; POURIS, 2012; SONG; ZHANG; DONG, 2016; WANG et al., 2018).

Para a pesquisa foram utilizadas como palavras-chave e scripts booleanos: TOPIC: ("neonicotinoid*") AND TOPIC: ("bee" OR "honey bee" OR "honeybee" OR "honey-bee" OR "Apis"). Não foi delimitado o intervalo de tempo para a busca de publicações. Esta pesquisa resultou em 1.200 publicações. Depois de analisar o título, o resumo ou trabalho completo, as publicações com informações sobre o efeito de neonicotinoides no comportamento e na fisiologia de abelhas da espécie *A. mellifera* foram selecionados. Trabalhos avaliando efeitos subletais com interação entre diferentes fatores, co-exposição e sinergismo entre diferentes grupos químicos e demais fatores foram excluídos, para que não houvesse interferência entre eles, devido a dificuldade de separar qual efeito está associado a qual grupo (conforme análise de SIVITER et al., 2018). Além disso, foram analisados apenas estudos realizados a partir de 2012, totalizando assim, 101 publicações. Após a seleção prévia, os artigos foram separados em grupos de diferentes efeitos subletais, sendo eles os efeitos fisiológicos, efeitos no desempenho da colônia ou efeitos comportamentais.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Alterações fisiológicas

Os inseticidas quando absorvidos via contato ou ingeridos pelas abelhas podem ocasionar alterações bioquímicas neste inseto e, conseqüente, alterações na fisiologia. Através do uso de marcadores celulares, pode-se observar alterações fisiológicas nas células, podendo ser em proteínas de desintoxicação celular, de estresse celular ou proteínas ligadas a respiração celular (NOCELLI et al., 2012).

4.3.1.1 Alteração nos genes, na expressão gênica e na atividade enzimática

A interferência desses ingredientes ativos na expressão gênica ocasiona alteração nas proteínas e nas enzimas presentes nas células. Assim, sabendo que as

expressões dos genes estão relacionadas a todas as funções vitais dos insetos, vários estudos analisando e relacionando ingredientes ativos, doses subletais, idades e castas de abelhas *A. mellifera* a proteínas e enzimas estão sendo desenvolvidos com a finalidade de determinar o mecanismo das células quando intoxicadas (Quadro 2).

Quadro 2 - Publicações avaliando tipos de genes, expressão gênica e atividade enzimática de abelhas *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides (continua)

Publicação	Ingrediente Ativo	Dose indicada pelo autor	Via de Exposição	Modo de exposição	Casta	Tipos de Genes/ Expressão gênica/ Atividade Enzimática
Fent et al. (2020) a	Tiaclopride	25 ng/abelha 250 ng/abelha 2500 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de genes relacionados ao sistema endócrino
Fent et al. (2020) b	Tiaclopride	25 ng/abelha 250 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão gênica global no cérebro
Shi et al. (2020) a	Acetamepride	5 mg/L 25 mg/L	Oral	Crônica	Larvas e Operárias (14 dias)	Expressão de genes relacionados a: imunidade, desintoxicação, acetilcolinesterase e memória
Zhang et al., (2020) b	Imidacloprido	24 µg/kg	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de genes relacionados a memória e aprendizado
Wu; Zheng; Chen (2020)	Tiaclopride	35,0 mg/L 17,5 mg/L	Oral	Crônica	Operárias	Expressão do gene citocromo (P450)
Paleolog et al. (2020)	Imidacloprido	5 ppb 200 ppb	Alimentação da Colônia	Crônica	Rainhas, Zangões e Operárias (1 ou 20 dias)	Atividade da proteólise, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e metilação global do DNA
Tomé et al. (2019)	Imidacloprido	3,1 ppb 377 ppb	Oral	Crônica	Larvas de operárias	Expressão gênica de enzimas de desintoxicação
Abdelkader et al. (2019)	Clothianidin	0,1 µL/L	Oral	Crônica	Zangão	Atividades de enzimas antioxidantes
Li et al. (2019)	Imidacloprido	0,02 ng/uL	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão gênica (130 genes do cérebro)
Christen et al. (2019) b	Clotianidina	3 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de vitelogenina
Catae et al. (2018) a	Imidacloprido	0,01465 ng/uL	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de proteínas do cérebro
Catae et al. (2018) b	Imidacloprido	0,014651 ng/µL	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de proteínas do cérebro
Balieira et al. (2018)	Imidacloprido	0.7 ng/mL 2 ng/mL	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Atividade de enzimas de desintoxicação
Yao; Zhu; Adamczyk (2018)	Clotianidina	2,6 ppb	Oral	Crônica	Operárias recém emergidas	Atividade de enzimas de desintoxicação

Quadro 2 - Publicações avaliando tipos de genes, expressão gênica e atividade enzimática de abelhas *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides (continuação)

Publicação	Ingrediente Ativo	Dose indicada pelo autor	Via de Exposição	Modo de exposição	Casta	Tipos de Genes/ Expressão gênica/ Atividade Enzimática
Zhu; Yao; Adamczyk (2018)	Imidacloprido	0,00021 0,21 mg/L 0,92 mg/L 17,12 mg/L 40,66 mg/L 58,64 mg/L 67,41 mg/L 118,13 mg/L 206,94 mg/L	Spray	Crônica	Operárias recém emergidas	Atividade da enzima acetilcolinesterase, enzimas de desintoxicação e enzimas relacionadas a imunidade.
Gauthier et al. (2018)	Imidacloprido	6 ng/mL 20 ng/mL 60 ng/mL 200; ng/mL	Oral	Crônica	Operárias recém emergidas	Atividade da acetilcolinesterase; peroxidação lipídica e α -tocoferol
	Tiametoxam	12 ng/mL 40 ng/mL 120 ng/mL 400 ng/mL				
Christen et al. (2018)	Clotianidina	0,3 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de genes globais do cérebro
	Imidacloprido	3 ng/abelha				
	Tiametoxam	0,1 ng/abelha 1 ng/abelha				
Collison et al. (2018)	Imidacloprido	102 ppb;	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Genes relacionado a imunidade
	Tiametoxam	10 ppb				
Shi et al. (2017) a	Tiametoxam	10 ppb	Oral	Crônica	Operárias recém emergidas	Expressão gênica (609 genes)
Shi et al. (2017) b	Tiametoxam	10 ppb	Oral	Crônica	Operárias recém emergidas	Expressão de miRNA
Tavares et al. (2017)	Tiametoxam	0,000001 ng/ μ L 0,001 ng/ μ L 1,44 ng/ μ L	Oral	Crônica	Larvas de operárias	Atividade da acetilcolinesterase e de enzimas de desintoxicação
Wu et al. (2017)	Imidacloprido	0,5 ng/ μ L	Oral	Crônica	Larvas de operárias	Expressão gênica global
Zhu et al. (2017) a	Imidacloprido	274 mg/L	Contato em folha	Aguda	Operárias recém emergidas	Expressão da vitelogeneína

Quadro 2 - Publicações avaliando tipos de genes, expressão gênica e atividade enzimática de abelhas *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides (continuação)

Publicação	Ingrediente Ativo	Dose indicada pelo autor	Via de Exposição	Modo de exposição	Casta	Tipos de Genes/ Expressão gênica/ Atividade Enzimática
Li et al. (2017)	Imidacloprido	8,6 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão de genes relacionada a imunidade; atividade da acetilcolinesterase e de enzimas de desintoxicação
	Clotianidina	2 ng/abelha				
	Clotianidina	10 µg/L 50 µg/L				
Zhu et al. (2017) b	Imidacloprido	918 ppb	Oral	Crônica	Operárias recém emergidas	Atividade da acetilcolinesterase e enzimas relacionadas a desintoxicação
Smet et al. (2017)	Imidacloprido	6 ppb 200 ppb	Alimentação da colônia	Crônica	Operárias recém emergidas	Expressão de genes relacionado a imunidade e a desintoxicação
Christen; Bachofer; Fent (2016)	Acetamipride	8, ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Atividade da acetilcolina e vitelogenina
	Clotianidina	0,3 ng/abelha				
	Imidacloprido	0,3 ng/abelha				
	Tiametoxam	0,1 ng/abelha				
Christen; Mittner; Fent (2016)	Acetamipride	8 ng/abelha 80 ng/abelha 800 ng/abelha 8000 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Expressão do gene vitelogenina, genes relacionados ao sistema imunológico, genes relacionados ao estresse catalase e genes relacionados a formação da memória
	Clotianidina	0.0 ng/abelha 0,3 ng/abelha 1,5 ng/abelha 3 ng/abelha				
	Imidacloporid	0,3 ng/abelha 3 ng/abelha 30 ng/abelha				
	Tiamethoxam	0,01 ng/abelha 0,05 ng/abelha 0,1 ng/abelha 1 ng/abelha				
Alptekin et al. (2016)	Tiaclopride	10 ug/abelha	Oral	Aguda	Operárias forrageiras	Expressão de genes relacionados desintoxicação
	Imidacloprido	10 ug/abelha	Tópica (Tórax)			

Quadro 2 - Publicações avaliando tipos de genes, expressão gênica e atividade enzimática de abelhas *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides (conclusão)

Publicação	Ingrediente Ativo	Dose indicada pelo autor	Via de Exposição	Modo de exposição	Casta	Tipos de Genes/ Expressão gênica/ Atividade Enzimática
Chaimanee et al. (2016)	Imidacloprido	0,02 ppb 0,1 ppb 0,2 ppb 0,4 ppb	Tópica (tórax)	Aguda	Rainhas	Expressão de genes relacionados a imunidade, ao desenvolvimento e a desintoxicação
		0,02 ppb			Operárias recém emergidas	
Badawy, Nasr, Rabea (2015)	Acetamepride	0,6 mg/L 1,2 mg/L 2,4 mg/L 6 mg/L 60 mg/L	Oral e Tópico	Aguda	Operárias	Atividade da acetilcolinesterase e enzimas de desintoxicação
Di Prisco et al. (2013)	Clotianidina	10 ng 20 ng 30 ng 40 ng 50 ng	Oral	Crônica	Operárias recém emergidas	Expressão de gene relacionado a imunidade
	Imidacloprido	2,5 ng 5 ng 10 ng 20 ng 30 ng 40 ng 50 ng				
Derecka et al. (2013)	Imidacloprido	0.2 ug/L	Alimentação da colônia	Crônica	Larvas de operárias	Expressão gênica de larvas
Boily et al. (2013)	Imidacloprido	0,08 ng/abelha 0,16 ng/abelha 0,24 ng/abelha 0,30 ng/abelha	Oral	Crônica	Operárias forrageiras	Atividade da acetilcolinesterase
	Clotianidina	0,03 ng/abelha 0,06 ng/abelha 0,12 ng/abelha 0,24 ng/abelha				

Fonte: Autoria própria (2021)

Os estudos avaliando a ação de neonicotinoides em proteínas e enzimas relacionados ao gene de desintoxicação de *A. mellifera* foram os mais frequentes nesta revisão. Dentre estes estudos, destacam-se a avaliação de carboxilesterase, citocromo P450 e glutatona S-transferase, que são enzimas de desintoxicação, sendo as duas primeiras de fase I e a terceira de fase II da desintoxicação, respectivamente, capazes de conjugar compostos químicos em substâncias polares e outros derivados solúveis em água, tornando-os mais fáceis de serem excretados pelas abelhas (CLAUDIANOS et al., 2006; HUBER; ALMEIDA, 2008; KETTERMAN; SAISAWANG; WONGSANTICHON, 2011).

Essa importância é dada para este processo, pois a desintoxicação metabólica enzimática é a principal via de resistência do inseto a fatores químicos externos (NOCELLI et al., 2012). Entretanto, as abelhas apresentam maior sensibilidade a inseticidas, tendo em vista que estas possuem reduzido número de enzimas de desintoxicação quando comparadas a outros insetos (CLAUDIANOS et al., 2006). Além disto, o grande número de estudos com estas enzimas, pode estar relacionado também, a utilização de *A. mellifera* como biomarcador de contaminação ambiental (BARGAŃSKA; ŚLEBIODA; NAMIEŚNIK, 2015; QUIGLEY; AMDAM; HARWOOD, 2019).

4.3.1.2 Microbiota intestinal

Os neonicotinoides podem comprometer o sistema imune das abelhas tornando-as mais susceptíveis a patógenos. Dentre os bioensaios utilizados para verificar esse fator, destaca-se a avaliação da microbiota intestinal (Quadro 3)

Quadro 3 - Publicações avaliando a microbiota intestinal de operárias de *Apis mellifera* alimentadas com doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição	Estágio de vida
Liu et al. (2020)	Tiaclopride	0,2 mg/L 0,6 mg/L 2,0 mg/L	Oral	Crônica	Recém emergida
Zhu et al., (2019)	Nitenpyram	3 µg/L 30 µg/L 300 µg/L	Oral	Crônica	Recém emergidas
Raymann et al. (2018)	Imidacloprido	1 mg/mL	Oral	Crônica	Forrageiras
Jones et al. (2017)	Tiametoxam + Clotianidina tratamento de sementes		Colônias colocadas em campo de canola		
Catae et al. (2014)	Tiametoxam	0,0428 ng/L	Oral	Crônica	Recém emergidas

Fonte: Autoria própria (2021)

Nestes estudos foram verificados que baixas doses dos neonicotinoides testados são capazes de alterar a microbiota do intestino de *A. mellifera*. Embora se espera que a utilização de inseticidas no tratamento de sementes seja mais seguro para as abelhas, ao analisar operárias que forragearam em campo contendo semente tratada com tiametoxam + clotianidina, também foram observadas alterações na microbiota intestinal (JONES et al., 2017). Apenas no trabalho utilizando 1 mg/mL de imidacloprido não houve anormalidade quando comparados ao grupo controle (RAYMANN et al., 2018).

Estima-se que a microbiota intestinal de *A. mellifera* é composta por oito filótipos de bactérias, os quais possuem capacidade de digerir o pólen, biossintetizar nutrientes, neutralizar toxinas e também atuar na imunidade contra agentes patogênicos (ENGEL; MARTINSON; MORAN, 2012; LEE et al., 2014). No entanto, alterações neste fator não só comprometem a abelha individualmente, uma vez que a produção de alimentos na colônia depende da atuação dos micro-organismos do trato digestório para metabolização do néctar e pólen coletados e da secreção dos mesmos para nutrir os demais (LEE et al., 2014). Desta forma, a microbiota intestinal interfere no sistema nutricional, imunológico e também fisiológico das abelhas e, conseqüentemente, de toda a colônia.

4.3.1.3 Alterações do Sêmen

Parâmetros fisiológicos associados a reprodução também foram descritos entre as publicações avaliadas. Dentre eles, foram realizados ensaios relacionados a quantidade de espermatozoides armazenados e qualidade do sêmen (concentração, motilidade, viabilidade) (Quadro 4).

Quadro 4 - Publicações avaliando parâmetros do sêmen de *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição	Casta	Bioensaio com espermatozoides
Inouri-Iskounen et al. (2020)	Imidacloprido	1 µM 10 µM 25 µM	Co-incubação	Crônica	In vitro	Motilidade
Forfert et al. (2017)	Tiametoxam	4 ppb	Oral	Crônica	Rainha	Quantidade
	Cloridanina	1 ppb				
Gajger et al. (2020)	Tiametoxam	4.28 ng/larva 8.56 ng/larva	Oral	Aguda	Rainha ¹	Quantidade
Ciereszko et al. (2017)	Imidacloprido	5 ppb 200 ppb	Oral	Crônica (Alimentação da colônia)	Zangão	Concentração Motilidade Viabilidade
Straub et al. (2016)	Tiametoxam	4,5 ppb	Oral	Crônica (Alimentação da colônia)	Zangão	Quantidade Viabilidade
	Imidacloprido	1,5 ppb				
Chaimanee et al. (2016)	Imidacloprido	0,02 ppb 0,1 ppb 0,2 ppb 0,4 ppb	Tópica	Aguda	Rainha	Viabilidade
Williams et al. (2015)	Tiametoxam	4 ppb	Oral	Crônica	Rainha ¹	Qualidade e quantidade
	Clotianidina	1 ppb				

¹ a exposição do produto na fase larval das rainhas

Fonte: Autoria própria (2021)

Embora não tenha interferido na concentração de sêmen, o imidacloprido mesmo em baixas doses, alterou a motilidade e a viabilidade espermática em zangões (CIERESZKO et al., 2017; STRAUB et al., 2016). Efeitos negativos também foram observados na viabilidade do sêmen presente na espermoteca das abelhas rainhas, depois de contato agudo com a mesma inseticida (CHAIMANEE et al., 2016). A redução no número de espermatozoides também foi observada nas publicações com rainhas (FORFERT et al., 2017; GAJGER et al., 2020; WILLIAMS et al., 2015). Embora

não tenha sido observado a alterações na quantidade de espermatozoides no estudo realizado por Straub et al. (2016), foi observada a redução de espermatozoides vivos. Os trabalhos demonstram que os neonicotinoides interferem negativamente, principalmente, na motilidade e viabilidade do sêmen deste inseto.

As rainhas, ao atingirem a maturidade, realizam o voo nupcial, onde podem acasalar com até 17 zangões (GALLO et al., 2002). Neste momento, a rainha recebe e armazena os espermatozoides na espermateca que serão utilizados no decorrer de sua vida, que pode chegar a cinco anos (CRUZ LANDIM, 2008; GALLO et al., 2002). O sêmen permanece armazenado na espermateca até a utilização para fertilização dos ovócitos (CRUZ LANDIM, 2008). Desta forma, as perdas nos parâmetros qualitativos dos espermatozoides ou do sêmen sejam eles, nos zangões ou na rainha, e a diminuição na quantidade de sêmen armazenado pela rainha ocasionam redução da variabilidade genética das abelhas (FORFET et al., 2017) e também redução na força da colônia.

4.3.2 Desempenho da Colônia

A interferência dos neonicotinoides no desempenho da colônia foram avaliadas por estudos em colônias alocadas próximas a campos cultivados com sementes tratadas (Quadro 5). Também foram verificados estes parâmetros na alimentação de colônias com doses subletais (Quadro 6).

Quadro 5 - Publicações avaliando desempenho da colônia de *Apis mellifera* próximas a culturas plantas utilizando sementes tratadas com neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Cultura
Osterman et al. (2019)	Clotianidina	Canola
Jones et al. (2017)	Tiametoxam + Clotianidina	Canola
Alburaki et al. (2016)	Neonicotinoide	Milho
Rolke et al. (2016)	Clotianidina	Canola
Thompson et al. (2016)	Tiametoxam	Canola
Alburaki et al. (2015)	Tiametoxam	Milho
Cutler et al. (2014)	Clotianidina	Canola
Pilling et al. (2013)	Tiametoxam	Milho e Canola

Fonte: Autoria própria (2021)

Quadro 6 - Publicações avaliando desempenho da colônia de *Apis mellifera* alimentada com doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição
Siefert et al. (2020)	Clotianidina	1 e 10 ppb;	Oral	Crônica
	Tiaclopride	200 ppb		
Paleolog et al. (2020)	Imidacloprido	5 ppb 200 ppb	Oral	Crônica
Friedli et al. (2020)	Tiametoxam Clotianidina	4,9 ppb 2,1 ppb	Oral	Crônica
Colin et al. (2019) a	Imidacloprido	5 ppb	Oral	Crônica
Wood et al. (2018)	Tiametoxam Imidacloprido Clotianidina	20 ou 80 nM	Oral	Crônica
Meikle; Weiss (2017)	Imidacloprido	5 ppb 10 ppb	Oral	Crônica
Siede et al. (2017)	Tiaclopride	0,2 mg/L 2 mg/L	Oral	Crônica
Wu-Smart; Spivak (2016)	Imidacloprido	10 ppb 20 ppb 50 ppb 100 ppb	Oral	Crônica
Meikle et al. (2016)	Imidacloprido	5 ppb 20 ppb 100 ppb	Oral	Crônica
Wegener et al. (2016)	Imidacloprido	20 µg/L 200 µg/L 1000 µg/L	Oral	Crônica
Dively et al. (2015)	Imidacloprido	5 µg/kg 20 µg/kg 100 µg/kg	Oral	Crônica
Lu; Warchol; Callahan (2014)	Imidacloprido Clotianidina	258 µg	Oral	Crônica
Sandrock et al. (2014)	Tiametoxam Clotianidina	5 ppb 1 ppb	Oral	Crônica

Fonte: Autoria própria (2021)

Os fatores de desempenho da colônia avaliados, de maneira geral, foram força da colônia (peso da colônia, número de crias e número de abelhas adultas), recursos alimentares (produção de mel e coleção de pólen) presença de patógenos [*Varroa destructor* Anderson e Trueman, 2000 (Parasitiformes: Varroidae) e *Nosema* sp.], sobrevivência da colônia, entre outros. As colônias alocadas em campos de produção com sementes tratadas, de maneira geral, não apresentaram alterações no desempenho. Foram verificadas, apenas, abelhas com alterações na microbiota intestinal após forragear campos de canola contendo tratamento de sementes (JONES et al., 2017).

Nas colônias alimentadas com doses subletais foram verificadas alterações no desempenho das colônias, como menor oviposição da rainha (WU-SMART; SPIVAK, 2016), indução de forrageamento precoce (COLIN et al., 2019; DIVELY et al., 2015; WU-SMART; SPIVAK, 2016); diminuição na força da colônia, representados pela diminuição no peso da colônia, redução no número de crias e no número de abelhas adultas (MEIKLE et al., 2016; SANDROK et al., 2014; SIEDE et al., 2017), comprometimento do desenvolvimento larval (SIEFERT et al., 2017), dentre outros fatores. No estudo de Lu et al., (2014), foi observado o despovoamento da colônia, porém com repovoamento logo em seguida.

As colônias de abelhas *A. mellifera* são organizadas em castas, com funções distintas, onde cada uma delas, possui papel fundamental para que o desempenho da colônia. A rainha e os zangões, possuem dentre outras funções específicas, a reprodução da espécie, enquanto as operárias desempenham as tarefas da colônia conforme a idade (COUTO; COUTO, 2006; GALLO et al., 2002; TAUTZ, 2010). Assim, quando estressores, como inseticidas neonicotinoides, interferem em funções fisiológicas e comportamentais individuais, refletem na colônia como um todo. Um exemplo disso, é que com a diminuição na oviposição realizada pela rainha, ocorre a diminuição no número de crias e operárias adultas (força da colônia) e, conseqüentemente, redução dos recursos alimentares.

4.3.3 Interferência dos inseticidas no comportamento

Assim como os estudos relacionados a fisiologia das abelhas, os estudos de comportamento são importantes para analisar alterações cognitivas, em especial as alterações ocasionadas por agentes, como os inseticidas, nas tarefas de cada casta.

4.3.3.1 Alterações de aprendizado e memória

Dentre as avaliações de comportamento, salientam-se os relacionados ao aprendizado e a memória das abelhas. Estes testes ocorrem através do ensaio de resposta da extensão de probóscide, o qual consiste em realizar recompensa com sucrose após as abelhas responderem a estímulo olfativo (Quadro 7).

Quadro 7 - Publicações avaliando aprendizado e memória pelo ensaio de resposta da extensão de probóscide em abelhas operárias de *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição	Estágio de vida
Mustard et al. (2020)	Tiametoxam	2,7 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
	Clotianidina	2,3 ng/abelha			
	Imidacloprido	2,4 ng/abelha			
	Dinotefurano	1,9 ng/abelha			
Liu et al. (2019)	Rac-Dinotefuran	0,13 mg/kg 0,43 mg/kg	Oral	Crônica	Operárias
	R-Dinotefuran	1,89 mg/kg 3,60 mg/kg			
	S-Dinotefuran	0,06 mg/kg 0,17 mg/kg			
Tison et al. (2019)	Clothianidin	0,1 ng/abelha 0,3 ng/abelha 0,8 ng/abelha	Oral	Aguda	Operárias
Iqbal; Alqarni; Raweh (2019) a	Imidacloprido	1,0 ng/abelha 0,5 ng/abelha 0,1 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
Li et al. (2019)	Imidacloprido	0.02 ng/uL	Oral	Crônica	Forrageiras
Tison et al. (2017)	Tiaclopride	50 ng/uL	Oral	Aguda	Forrageiras
Alkassab; Kirchner (2016)	Clotianidina	1 µg/kg 5 µg/kg 10 µg/kg 15 µg/kg	Oral	Crônica	Forrageiras
Piironen; Goulson (2016)	Clotianidina	4 ppb	Oral	Crônica	Recém Emergidas
Eiri; Nieh (2016)	Imidacloprido	24 ppb 241 ppb	Oral	Aguda	Forrageiras
Thany et al., (2015)	Acetamepride	10 ng/abelha 100 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
Goñalons; Farina (2015)	Imidacloprido	0,25 ng 0,50 ng	Oral e Tópica (tórax)	Aguda	Operárias 2 - 10 Dias
Wright; Softley; Earnshaw (2015)	Tiametoxam	0,1 nM 1 nM 10 nM	Oral	Aguda	Forrageiras
	Imidacloprido	0,1 nM 1 nM 10 nM			
Zhang; Nieh (2015)	Imidacloprido	10 nmol ⁻¹ 100 nmol ⁻¹ 1000 nmol ⁻¹	Oral	Crônica	Forrageiras
Carrillo et al. (2013)	Imidacloprido	0,025 µg/abelha 0,05 µg/abelha 0,1 µg/abelha 0,2 µg/abelha 0,4 µg/abelha	Oral	Aguda	Operárias
Williamson; Baker; Wright (2013)	Imidacloprido	1,28 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
Williamson; Wright (2013)	Imidacloprido	23,3 µg/Kg	Oral	Crônica	Forrageiras

Fonte: Autoria própria (2021)

Os resultados destes estudos demonstram, em sua maioria, que mesmo em baixas doses os diferentes neonicotinoides comprometem o aprendizado e a memória das abelhas *A. mellifera* expostas a estes. Ressalta-se que em alguns casos observou-se que o inseticida não foi prejudicial ao aprendizado das abelhas, porém ocasionou alterações na formação e na retenção da memória (THANY et al., 2015; TISON et al., 2019). Enquanto outros estudos verificaram efeito negativo na retenção e na formação da memória, também verificaram a efeitos negativos no aprendizado das abelhas (IQBAL; ALQARNI; RAWEH, 2019a; LI et al., 2019; LIU et al., 2019; MUSTARD et al., 2020). Em ambos os casos, a atividade de forrageamento fica comprometida, tendo em vista que as abelhas devem lembrar quais as espécies de flores que recompensam pólen e néctar, aonde estão localizadas, quais flores acabaram de ser visitadas, como extrair os resíduos em cada tipo de flor, bem como a localização da colônia (CHITTKA; THOMSON, 2001).

4.3.3.2 Impactos na função motora

A função motora também possui destaque entre as avaliações comportamentais em *A. mellifera*. Os estudos sobre essa variável podem ocorrer através de diferentes bioensaios, sendo eles: caminhar, deslocamento em resposta a estímulo luminoso, atividade de forrageamento e locomoção (Quadro 8 e Quadro 9).

Quadro 8 - Publicações avaliando a locomoção em abelhas operárias de *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição	Estágio de vida
Tackenberg et al. (2020)	Clotianidina	30 ppb 70 ppb 140 ppb	Oral	Crônica	Forrageiras
	Tiametoxam	25 ppb 70 ppb 140 ppb			
Bartling; Vilcinskis; Lee (2019)	Clotianidina	3000 pg abelha/ μ L 300 pg abelha/ μ L 30 pg abelha/ μ L	Oral	Crônica	Operárias
Tosi; Nieh (2017)	Tiametoxam	1,34 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
		1,42 ng/abelha 3,48 ng/abelha	Oral	Crônica	Forrageiras
Tosi; Burgio; Nieh (2017)	Tiametoxam	1,34 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
	Tiametoxam	1,96 ng/abelha 2,90 ng/abelha	Oral	Crônica	Forrageiras
Lunardi; Zaluski; Orsi (2017)	Imidacloprido	0,0001618 μ g/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
		0,0001252 μ g/abelha	Contato		
Charreton et al. (2015)	Tiametoxam	3,8 ng/abelha	Tópica (tórax)	Aguda	Recém Emergidas
Cresswell; Robert (2013)	Imidacloprido	125 μ g/kg 98 μ g/kg	Oral	Crônica Aguda	Recém Emergidas
Cresswell et al. (2012)	Imidacloprido	125 μ g/L 50 μ g/L 20 μ g/L 8 μ g/L 3,20 μ g/L 1,28 μ g/L 0,51 μ g/L 0,20 μ g/L 0,08 μ g/L	Oral	Crônica	Forrageiras
Teeters et al. (2012)	Imidacloprido	0,05 ppb 0,5 ppb 5,0 ppb 50 ppb 500 ppb	Tópica (tórax)	Aguda	Forrageiras

Fonte: Autoria própria (2021)

Quadro 9 - Publicações avaliando a atividade de forrageamento em abelhas operárias de *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição	Estágio de vida
Shi et al. (2020) b	Acetamepride	0,5 1,0 µg/abelha 2,0 µg/abelha	Tópica (tórax)	Aguda	Forrageiras ¹
Morfin et al. (2019)	Clotianidina	0,13 ng 0,67 ng 1,33 ng	Oral	Crônica	Forrageiras ²
Colin et al. (2019) a	Imidacloprido	5 ppb	Oral	Crônica	Forrageiras ³
Colin et al. (2019) b	Imidacloprido	5 ppb	Oral	Crônica	Forrageiras ²
Alkassab; Kirchner (2018)	Clotianidina	0,1 ng/abelha 0,5 ng/abelha 2 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
Thompson et al. (2016)	Tiametoxam	Tratamento De Sementes De Canola	-	-	Forrageiras
Karahan et al. (2015)	Imidacloprido	0,36 ng/abelha 0,72 ng/abelha 1,80 ng/abelha 7,20 ng/abelha	Tópica (tórax)	Aguda	Forrageiras
Williamson; Willis; Wright (2014)	Imidacloprido	10 nM	Oral	Crônica	Forrageiras
	Tiametoxam	10 nM			
	Clotianidina	10 nM			
	Dinotefurano	10 nM			
Schneider et al. (2012)	Clotianidina	0,05 ng/abelha 2 ng/abelha	Oral	Aguda	Forrageiras
	Imidacloprido	0,15 ng/abelha 6 ng/abelha			

¹aplicação em recém emergidas

²alimentação de larvas

³alimentação da colônia

Fonte: Autoria própria (2021)

Os neonicotinoides causam efeito negativo nas funções motoras das abelhas, como por exemplo na distância percorrida, no tempo de deslocamento, na direção de voo/caminhada e também no tempo de descanso. Esses fatores interferem de forma direta no forrageamento, onde poderão demorar mais tempo para coletar o pólen, em razão da dificuldade de orientação e deslocamento entre uma flor e outra, maior tempo de descanso, e conseqüentemente, menor coleta de pólen e néctar durante o forrageamento. Além disso, podem comprometer o retorno a colônia ou quando conseguem retornar, as abelhas forrageiras levam consigo vestígios destes produtos (AMARO; GODINHO, 2012; CATAE et al., 2018b; TOSI; NIEH, 2017; WOLFF; REIS; SANTOS, 2008) os quais podem interferir nas atividades das operárias dentro da

colônia, tendo em vista que mesmo as recém emergidas possuem funções específicas a serem desempenhadas na colônia.

4.3.3.3 Impactos na dança de comunicação

Outro comportamento importante é a dança de comunicação, realizado apenas por abelhas da espécie *A. mellifera*. Porém, apenas dois estudos relatam a interferência dos neonicotinoides sobre esta habilidade (Quadro 9).

Quadro 10 - Publicações avaliando a dança de comunicação em abelhas operárias de *Apis mellifera* expostas a doses subletais de neonicotinoides

Publicação	Ingrediente ativo	Dose indicada pelo autor	Via de exposição	Modo de exposição	Estágio de vida
Zhang et al. (2020)b	Imidacloprido	24 µg/kg	Oral	Crônica	Forrageiras
Eiri; Nieh (2016)	Imidacloprido	24 ppb 241 ppb	Oral	Aguda	Forrageiras

Fonte: Autoria própria (2021)

Em ambos os trabalhos, os resultados demonstram que os neonicotinoides alteram a dança de comunicação das abelhas. Abelhas operárias de *A. mellifera* quando encontram fonte de alimento ou um local para enxamear possuem capacidade de recrutar as demais forrageiras informando-as através de movimentos, descritos por elas em ângulos relacionados os raios solares e tempo de movimento, dados sobre localização, distância e qualidade de alimento (VON FRISCH; LINDAUER, 1956). Desta forma, as alterações no ângulo formado durante a dança e no tempo do movimento, interferem diretamente na localização.

O maior número de publicações nos últimos oito anos está relacionado ao efeito de neonicotinoides em parâmetros bioquímicos. Fato este, relacionado as diversas proteínas e enzimas ligadas as funções vitais de *A. mellifera*. Quando se trata das publicações sobre comportamento, o maior número de estudo é sobre as funções motoras, no entanto, cabe destacar o ensaio de aprendizagem e memória pela resposta da extensão da probóscide, sendo este um ensaio amplamente utilizado e de referência em estudos com inseticidas, devido as abelhas *A. mellifera* apresentarem facilidade de aprendizado e retenção da memória. Destaca-se ainda

que são escassos os estudos avaliando a ação destes inseticidas sobre o comportamento de comunicação de *A. mellifera*.

De maneira geral, os resultados dos trabalhos demonstram a sensibilidade das abelhas aos inseticidas neonicotinoides. Além disso, vale ressaltar, que mudanças comportamentais e/ou fisiológica de um indivíduo na colônia, podem afetar o funcionamento de toda a sociedade, já que o desempenho da colônia está relacionado a uma complexa relação entre as castas, e por isso, devem se manter em equilíbrio para que o funcionamento ocorra de forma harmônica.

4.4 CONCLUSÃO

Os efeitos subletais ocasionados por neonicotinoides em abelhas *A. mellifera* estão relacionados principalmente a alterações bioquímicas e na microbiota intestinal, diminuição da viabilidade espermática, comprometimento do desempenho das colônias. Além disso, prejudicam habilidades cognitivas como aprendizado, memória, na função locomotora e na dança de comunicação.

5 EFEITO DO RESIDUAL DE IMIDACLOPRIDO E BETA-CIFLUTRINA A OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* L. AFRICANIZADA (HYMENOPTERA: APIDAE)

5.1 INTRODUÇÃO

As abelhas *Apis mellifera* L. são insetos sociais pertencentes a ordem Hymenoptera, família Apidae, as quais possuem importância econômica devido a produção de mel, própolis, geleia real, apitoxina e, principalmente, por serem os principais agentes polinizadores dos vegetais (COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; GIANNINI et al., 2015; IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012; HUNG et al., 2018). Estes insetos necessitam das plantas para sua sobrevivência, desta forma, passam por diversas flores, coletando pólen e néctar que são transportados para as colônias e conforme pousam entre uma flor e outra, depositam o pólen sobre o estigma da flor seguinte, efetuando a polinização (ROBERTO et al., 2015). Entretanto, durante o período do inverno, os recursos florais são escassos (SHARMA et al., 2014).

Dentre as culturas de inverno que podem contribuir com a manutenção das colônias de abelhas está a canola, *Brassica napus* L. (Brassicaceae). Além do benefício para as colônias, o serviço de polinização realizado pelas abelhas na cultura da canola garante o aumento na quantidade de sementes/grãos e também na qualidade do óleo (DURAN et al., 2010; ALI et al., 2011; BOMMARCO et al., 2012; JAUKER et al., 2012; ROSA; BLOCHTEIN; LIMA, 2011; WITTER et al., 2015). A abundância e diversidade de insetos polinizadores variam de acordo com as regiões (BLOCHTEIN; WITTER; HALINSKI, 2015). Destacam-se como os polinizadores encontrados com mais frequência na cultura da canola no Brasil a espécie de abelhas *A. mellifera*, seguido pelas espécies nativas pertencentes as famílias Apidae, Halictidae, Colletidae, Andrenidae e Megachilidae (BLOCHTEIN; WITTER; HALINSKI, 2015; FUZARO et al., 2019; ROSA; BLOCHTEIN; LIMA, 2011).

Contudo, assim como as demais culturas, a canola é acometida por insetos-praga que comprometem a produtividade. Destacam-se a *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (traça-das-crucíferas), *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) e *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Aphididae) (afídeos), *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) (vaquinha), *Atta* spp. e *Acromyrmex* spp. (Hymenoptera, Formicidae) (formigas

cortadeiras), lagartas desfolhadoras e, em invernos menos intensos, podem ocorrer os percevejos *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) e *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) (NERY-SILVA et al., 2017; VISENTIN, PEREIRA, MARSARO JUNIOR, 2016). Porém, a falta de produtos liberados para a utilização nesta cultura (AGROFIT, 2020) leva os produtores a utilizarem inseticidas químicos sintéticos de amplo espectro de ação, cuja seletividade a inimigos naturais e polinizadores é baixa ou até mesmo nula (EMBRAPA, 2017).

Dentre os inseticidas que são liberadas para comercialização no Brasil, para outras culturas, mas que acabam por ser utilizadas para o controle dos insetos-praga que ocorrem na canola, está o imidacloprido e a beta-ciflutrina, sendo neonicotinoide e piretroide, respectivamente. Ambos possuem diversos produtos registrados, inclusive alguns contendo a junção dos dois inseticidas (AGROFIT, 2021). Apesar de pertencerem a grupos químicos distintos, eles atuam no sistema nervoso central dos insetos, sendo os neonicotinoides agonistas da acetilcolina e os piretroides moduladores dos canais de sódio (GALLO et al., 2002; MATSUDA et al., 2001; SODERLUND et al., 2002).

Embora ambos ingredientes ativos serem recomendados, principalmente, para o controle de insetos-praga das ordens Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera e Thyssanoptera, não impedem que estes produtos químicos causem toxicidade à outras ordens, como Hymenoptera. Insetos da ordem Hymenoptera são comuns em culturas anuais, seja pela presença de formigas, parasitoides ou pela presença de abelhas.

A influência dos inseticidas químicos sintéticos sobre abelhas já vem sendo estudada, pela possível influencia na Desordem do Colapso das Colônias (DCC) e pela mortalidade das abelhas (KAPLAN, 2012; MAP, 2017; GRIGORI, 2019). Neste sentido, destacam-se pesquisas sobre a ação de neonicotinoides e piretroides sobre *A. mellifera* quanto a mortalidade (ALIOUANE et al., 2009; BAPTISTA et al., 2009; STANLEY et al. 2015), alterações comportamentais (ALIOUANE et al., 2009; CHARRETON et al., 2015; TOSI; NIEH, 2017), alterações bioquímicas, metabólicas (CHAIMANEE et al., 2016; CATAE et al., 2018; CHRISTEN; FENT, 2017) e mel contaminado (GAWEL et al., 2019). Apesar desses importantes estudos, pouco se sabe sobre o efeito residual destes produtos na longevidade de abelhas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar, em bioensaio laboratorial, a toxicidade do

efeito residual de imidacloprido, beta-ciflutrina e da mistura destes, quando aplicados em campo, sobre operárias de *A. mellifera*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico (LABCON), na Unidade de Ensino e Pesquisa de Apicultura (UNEPE – Apicultura) e em campo experimental (COEXP) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR –DV).

Obtenção de *Apis mellifera*

Para a condução dos experimentos foram utilizadas abelhas operárias da espécie *A. mellifera* africanizada com, aproximadamente, 48 horas de vida adulta, obtidas através de favos de cria operculada provenientes da UNEPE Apicultura. Quadros contendo ovos de um dia foram marcados e, depois de 19 dias, recolhidos e envoltos em papel tipo kraft, lacrados, perfurados e transportados até o LABCON. No laboratório foram mantidos durante 48 horas (ou mais) em câmara climatizada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$), a fim de simular as condições ambientais da colônia e com isso obter emergência homogênea das abelhas.

Tratamentos

Os produtos utilizados nos tratamentos são liberados e comercializados no Brasil (AGROFIT, 2020). Os ingredientes ativos dos produtos são I: imidacloprido (neonicotinoide), I+B: imidacloprido + beta-ciflutrina; B: beta-ciflutrina (piretroide) e C: Controle (sem tratamento), os quais foram utilizados seguindo as recomendações dos respectivos fabricantes para o controle de *D. speciosa* na cultura do feijão (Tabela 3).

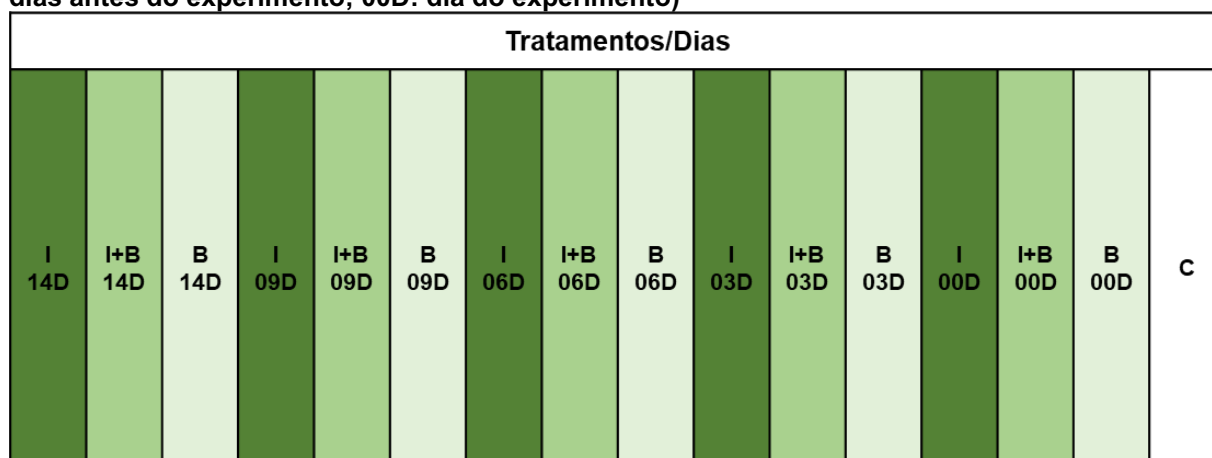
Tabela 3 - Ingredientes ativos dos produtos, concentração do produto comercial e dose recomendada pelo fabricante

Ingrediente ativo	Concentração g/L	Dose mL p.c./ha
Imidacloprido	480 g/L	200 mL p.c./ha
Beta-ciflutrina	50 g/L	100 mL p.c./ha
Imidacloprido + Beta ciflutrina	100 g/L + 12,5 g/L	750 mL p.c./ha

Fonte: Agrofite (2021).

Para determinação do efeito residual dos inseticidas, a área experimental (2000 m²) com cultivo de canola foi dividida em 16 parcelas (125 m² cada) (Figura 9). No momento da pulverização, o cultivo de canola estava em fase de floração/enchimento de grãos, sendo utilizado no manejo, apenas os inseticidas do experimento. Cada parcela recebeu os produtos, na concentração recomendada pelo fabricante, aos 14, 09, 06, 03 e 0 dias previamente a condução dos bioensaios. O controle não recebeu nenhum tratamento. Os produtos foram aplicados nas parcelas com auxílio de uma bomba de pulverização costal Jacto[®] de 20 L. No período em que ocorreram as aplicações, houve a ocorrência de chuvas um dia após a primeira aplicação (13 dias antes da condução do bioensaio) e também um dia antes da realização do bioensaio.

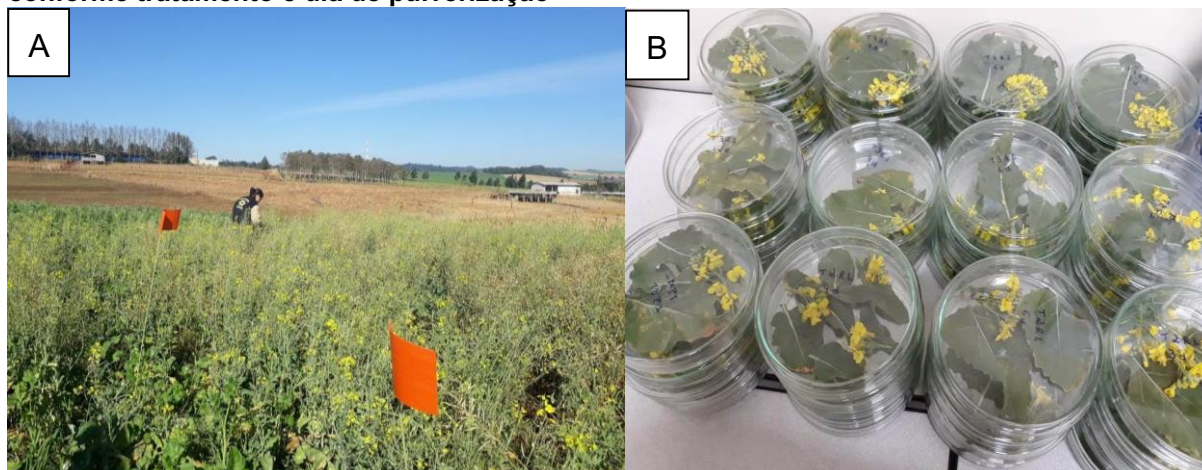
Figura 9 – Croqui da área contendo as parcelas de aplicação dos produtos (I: imidacloprido; I+B: imidacloprido + beta – ciflutrina; B: Beta-ciflutrina; C: Controle) com os respectivos dias de pulverização antes da montagem do experimento (14D: Plantas pulverizadas 14 dias antes do experimento; 09D: 09 dias antes do experimento; 06D: 06 dias antes do experimento; 03D: 03 dias antes do experimento; 00D: dia do experimento)



Fonte: Autoria própria (2019).

No dia de montagem/preparação do bioensaio em laboratório, as flores e folhas do terço médio e superior de canola, com 104 dias de desenvolvimento, foram cortadas aleatoriamente em cada parcela, com auxílio de tesoura de poda (Figura 10 A), acondicionadas em sacos de papel kraft, identificados, e transportadas para o LABCON. As folhas provenientes de cada dia de pulverização (14, 09, 06, 03 e 0) e de cada produto, bem como as folhas sem aplicação dos produtos foram acondicionadas em placas de Petri de vidro (1,5 cm de altura x 15 cm de diâmetro) devidamente identificadas, totalizando 15 tratamentos mais o controle (Figura 10 B).

Figura 10 A - Coleta de dos materiais vegetais contendo os tratamentos em área experimental da UTFPR – Dois Vizinhos. B - Material vegetal acondicionada em placas de Petri identificadas conforme tratamento e dia de pulverização



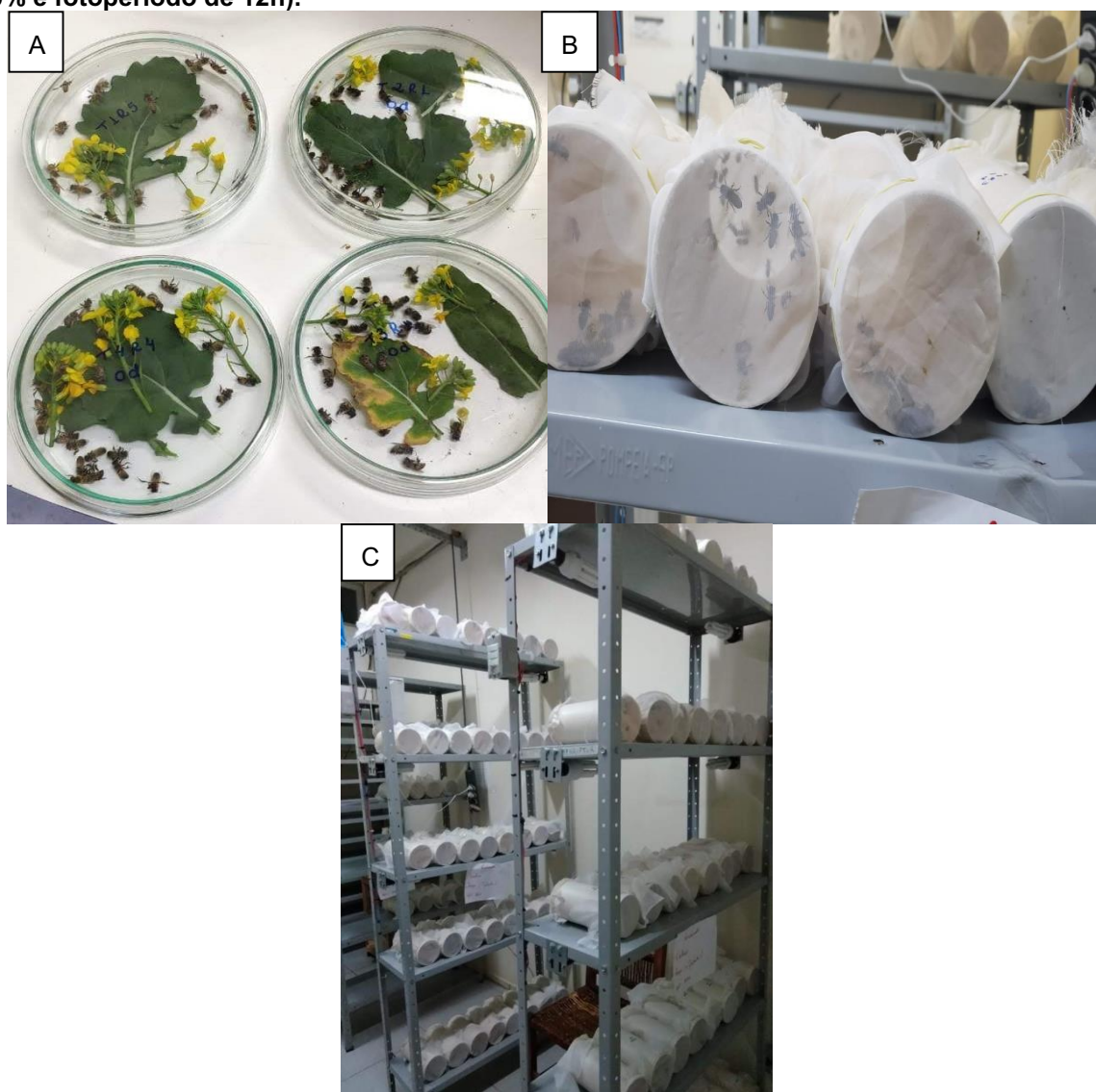
Fonte: Autoria própria (2019)

Em seguida, as abelhas operárias de *A. mellifera* com, aproximadamente, 48 horas de vida, foram anestesiadas com CO₂, por até 120 segundos. Grupos de 20 abelhas foram alocados em cada placa de Petri contendo as folhas tratadas, sendo cinco placas por tratamento, nas quais as abelhas permaneceram em contato por duas horas (Figura 11 A). Após esse período, as abelhas foram realocadas em gaiolas de PVC (20 cm de altura x 15 cm de diâmetro), sendo 20 operárias por gaiola, compondo cinco repetições por tratamento (metodologia adaptada COLOMBO et al., 2020; LIBARDONI et al., 2021) (Figura 11 B).

As gaiolas foram fechadas com tecido tipo *voile* onde foram fornecidos pasta cãndi e algodão embebido em água. As gaiolas foram acondicionadas em sala

climatizada (27 ± 2 °C, U.R. $60\% \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h) (Figura 11 C), onde foram realizadas avaliações quanto a mortalidade a uma, duas, três, quatro, cinco, seis, nove, 12, 15, 18, 21,24, 30, 36, 42, 48, 60, 72 e 96 horas após a transferência das abelhas para as gaiolas (metodologia adaptada BAPTISTA et al., 2009; COLOMBO et al., 2020; LIBARDONI et al., 2021).

Figura 11 A - Operárias de *Apis mellifera* em contato com material vegetal contendo os tratamentos. B - Operárias de *Apis mellifera* acondicionada em gaiolas de PVC após contato com os tratamentos. C - Gaiolas de PVC alocadas em sala climatizada (27 ± 2 °C, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h).



Fonte: Autoria própria (2019)

Os dados de sobrevivência foram tabulados em planilha Excel® e em seguida foram submetidos a análise de sobrevivência de Kaplan-Meier. Além disso, os tratamentos considerando os dias de cada produto foram comparados usando o teste de log-rank. A análise completa foi realizada usando o teste de sobrevivência pacote do software R. Para comparar a sobrevivência entre os diferentes produtos os dados foram submetidos ao teste de normalidade teste de Lilliefors e teste de homogeneidade de variância teste de Bartlett. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados em $\arcsen\sqrt{(x/100)}$ por meio do software Microsoft Excel e posteriormente submetidos a Análise de variância (ANOVA) seguido pela comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade através do software estatístico Bioestat 5.0®.

5.3 RESULTADOS

A avaliação do experimento iniciou na primeira hora, no entanto, devido ao efeito *Knock down* ocasionado pelos inseticidas não foi possível iniciar a contabilização de abelhas vivas (Figura 12). Este efeito é definido quando as abelhas permanecem no fundo das gaiolas com movimentos desordenados e tremores.

Figura 12 - Operárias de *Apis mellifera* acondicionadas em gaiolas de PVC sob efeito *Knock down* ocasionado pelos inseticidas



Fonte: A autoria própria (2019)

A confirmação da mortalidade foi realizada apenas a partir das 18 horas do início do experimento, quando os movimentos e tremores foram totalmente cessados, até mesmo sob estímulo. As abelhas mortas apresentavam coloração escura e probóscide exposta/externalizada, caracterizando morte por intoxicação (LIBARDONI, 2017)(Figura 13).

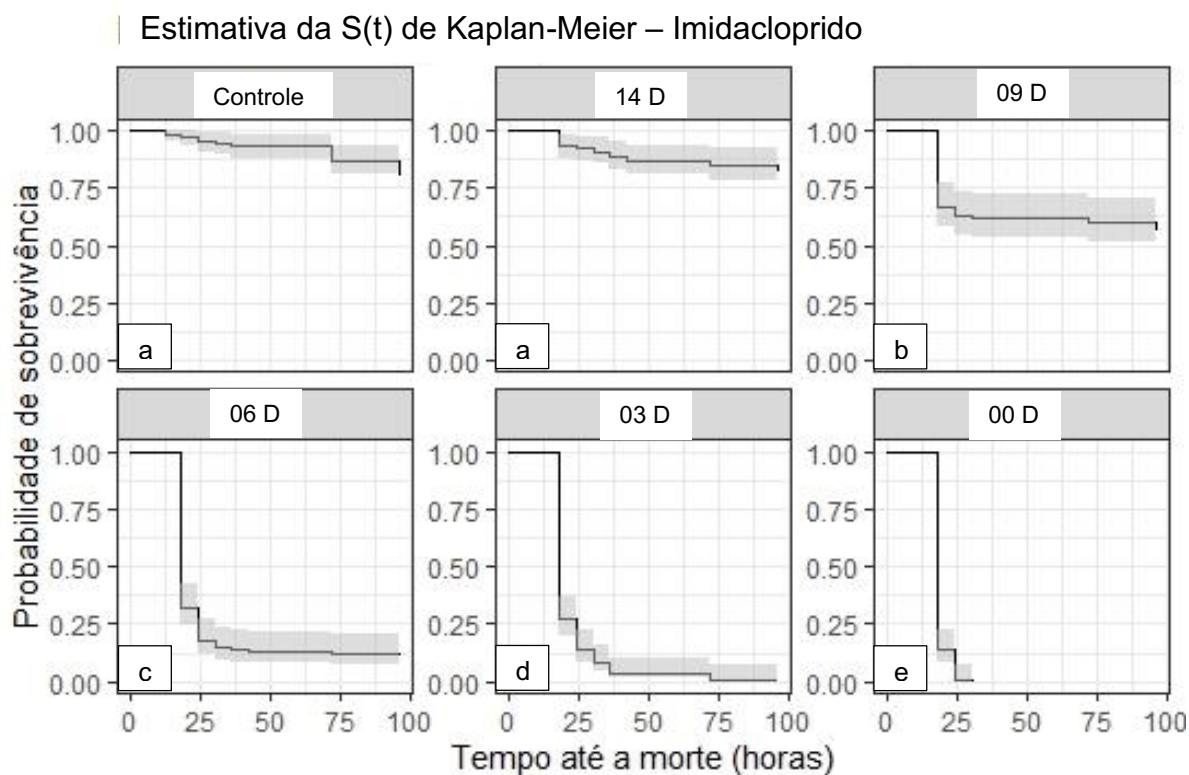
Figura 13 - Operárias de *Apis mellifera* retiradas das gaiolas com mortalidade confirmada após 18 horas de experimento



Fonte: Autoria própria (2019)

Em todos os experimentos, exceto para residual de 14 dias de imidacloprido e de 14 dias de imidacloprido + beta-ciflutrina, houve redução na longevidade das abelhas quando comparados às abelhas do controle, de forma que quanto menor o intervalo entre a aplicação do produto no campo e o contato com as abelhas, menor a sobrevivência destas. A sobrevivência das abelhas, 18 horas depois de entrarem em contato com folhas tratadas com imidacloprido, foi de, aproximadamente, 17% para efeito residual de 0 dias, 25% para o residual de 03 dias, 30% para o de 06 dias, e 65% para o de 09 dias e 97% de abelhas vivas para o residual de 14 dias (Figura 14).

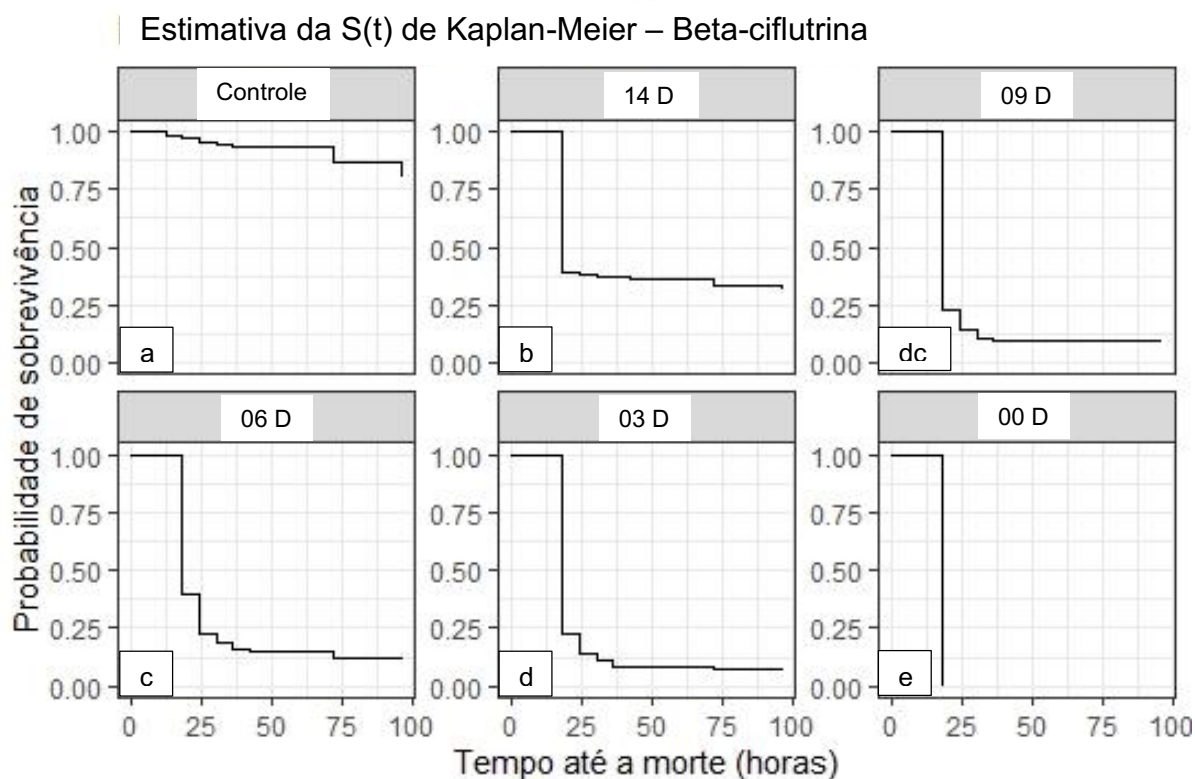
Figura 14 - Sobrevivência de operárias de *Apis mellifera*, por Kaplan-Meier, ajustado ao período (horas) após a exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias e 00 dias de imidacloprido, e ao controle. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).



Fonte: Autoria própria (2020)

No ensaio utilizando beta-ciflutrina, a sobrevivência das abelhas não passou de 18h no tratamento contendo residual de 00 dias (Figura 15). Observa-se que mesmo no tratamento em que as abelhas foram expostas ao contato de folhas com efeito residual de 14 dias, após as 18 horas, apenas 32% das operárias ainda estavam vivas.

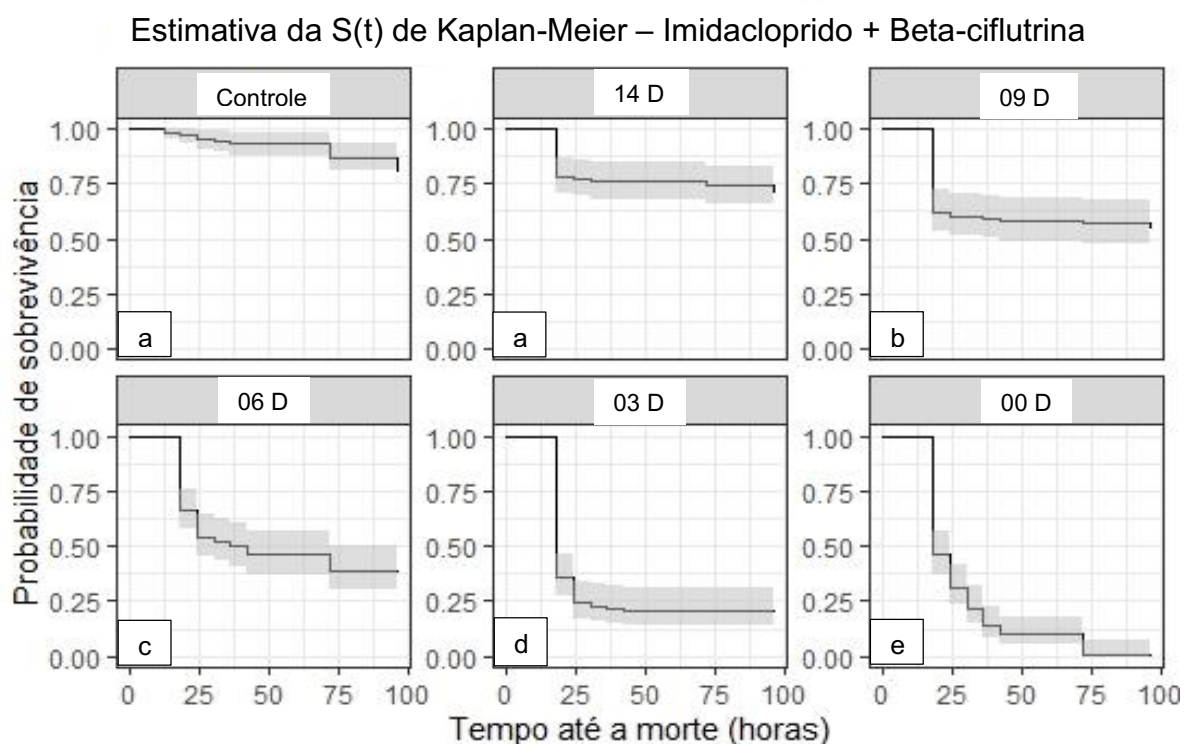
Figura 15 - Gráfico de sobrevivência de operárias de *Apis mellifera*, por Kaplan-Meier, ajustado ao período (horas) após a exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias, 00 dias de beta-ciflutrina, e ao controle. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$)



Fonte: Autoria própria (2020)

Já no bioensaio com beta-ciflutrina + imidacloprido, foi observado sobrevivência de 48% das abelhas em residual de 00 dias, após 18 horas da exposição (Figura 16). Enquanto para o mesmo período de tempo, foi verificada a sobrevivência de aproximadamente 77% das operárias em residual de 14 dias, percentual próximo ao verificado às 96 horas (74%), ao final das avaliações.

Figura 16 - Gráfico de sobrevivência de operárias de *Apis mellifera*, por Kaplan-Meier, ajustado ao período (horas) após a exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias, 00 dias de beta-ciflutrina + imidacloprido, e ao controle. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$)



Fonte: Autoria própria (2020).

A sobrevivência das abelhas, depois de 48 horas de exposição aos tratamentos, não apresentou diferença, comparando-se os produtos, com o mesmo tempo (dias) de efeito residual, a 00 e 03 dias (Tabela 4). Para o residual de 06 dias, abelhas expostas a imidacloprido + beta-ciflutrina apresentaram maior sobrevivência (46%). Para o residual de 09 e 14 dias o percentual de sobrevivência foi maior para abelhas expostas a imidacloprido (66% e 88%) e imidacloprido + beta-ciflutrina (58% e 76%).

Tabela 4 - Sobrevivência de operárias de *Apis mellifera* após 48 horas da exposição a canola contendo residual de 14 dias, 09 dias, 06 dias, 03 dias, 00 dias de I: imidacloprido, B: beta-ciflutrina e B+I: beta-ciflutrina + imidacloprido.

Residual	Produto			
	I	B	I + B	p
00	0 ± 0 cA	0 ± 0 bA	10 ± 4,74 bA	0,0353
03	4 ± 2,92 c	8 ± 3,39 b	21 ± 10,17 ab	0,1128
06	13 ± 4,64 cbB	15 ± 5 abB	46 ± 11,98 abA	0,0209
09	66 ± 8,46 bA	10 ± 4,74 abB	58 ± 14,88 abA	0,0047
14	88 ± 2,55 aA	36 ± 10,65 aB	76 ± 19,19 aAB	0,0332
p	< 0,0001	0,0022	0,0165	

Letras minúsculas para colunas e letras maiúsculas para as linhas, quando iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

5.4 DISCUSSÃO

As características de efeito *Knock down* apresentadas pelas abelhas em todos os tratamentos assemelharam-se às descritas por Carvalho et al. (2009) ao expor abelhas a doses subletais de deltametrina, tiametoxam, metidationa e abamectina, tanto por contato quanto por pulverização direta em condições laboratoriais. Tremores, quedas e inquietações também foram observados em abelhas recém emergidas alimentadas com dose subletal de imidacloprido (neonicotinoide) (SÁNCHEZ-BAYO, BELZUNCES, BONMATIN, 2017).

A morte ocasionada pelos neonicotinoides acontece pela prolongação anormal da ativação dos receptores de acetilcolina, ocasionando transmissão continua e descontrolada dos impulsos nervosos, levando a hiperexcitabilidade do sistema nervoso central dos insetos (VAN DER SLUIJS et al. 2013; TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Enquanto os piretroides aumentam o tempo de entrada dos íons de sódio para o interior da célula, por interferir na abertura e fechamento dos canais neurais de sódio (GALLO et al., 2002). Embora atuem em locais diferentes do sistema nervoso central, os sintomas de intoxicação de ambos os grupos químicos são semelhantes. Dentre as características apresentadas por abelhas operárias adultas mortas por intoxicação por inseticidas químicos, destaca-se a externalização do aparelho bucal (probóscide) e o escurecimento do tegumento (LIBARDONI, 2017), as quais também foram verificadas no presente estudo.

Com os resultados deste estudo, pode-se observar o impacto negativo ocasionado por inseticidas ao ambiente, uma vez que prejudicam a sobrevivência de abelhas *A. mellifera* africanizada até mesmo 14 dias após aplicação no campo. Além disso, os resultados encontrados corroboram com outros estudos, os quais avaliaram o efeito residual de imidacloprido na cultura do melão (*Cucumis melo* L.) sobre operárias forrageiras *A. mellifera*, e verificaram alta toxicidade deste, com residual de 1 hora e de 48 horas após a aplicação, causando mortalidade total das abelhas já nas primeiras 24 horas (GOMES et al., 2019). O efeito residual de três dias de imidacloprido em citros também tem efeito negativo em abelhas *A. mellifera*, de idade desconhecida, no qual o percentual de sobrevivência, depois de 24 horas do contato, foi de 60%, depois de sete dias foi de 77,5% e depois de 14 dias foi de 85% (CHEN et al., 2017b).

Para beta-ciflutrina os estudos ainda são escassos, no entanto, em pesquisa realizada com ciflutrina, mistura isomérica não resolvida da beta-ciflutrina (ARENA et al., 2020), foi observada a toxicidade em abelhas forrageiras após confinamento de 48 horas com folhas contendo seu residual. Neste estudo, a sobrevivência foi de 23% para residual de 1 dia, 76% de sobrevivência das abelhas para residual de 3 dias e 97,6% em residual de 5 dias (ESTESEN et al., 1992). O efeito residual de três dias do piretroide fenopropatrina em citros não possibilitou a sobrevivência de *A. mellifera* depois de 24 horas de contato, causando a mortalidade total das abelhas expostas. Ao mesmo tempo, que o residual de sete dias, ainda restavam 60% de operária de *A. mellifera* vivas, e para o residual de 14 dias 85% das operárias estavam vivas (CHEN et al., 2017).

No presente estudo, a menor sobrevivência de operárias de *A. mellifera* africanizada nos tratamentos contendo piretroide pode estar relacionada a este não atuar de forma sistêmica, como é o caso dos neonicotinoides, que conseguem penetrar na planta e translocar via xilema (AZNAR-ALEMANY; ELJARRAT, 2020; SIMON-DELSO et al., 2015). Além disso, apresenta baixa degradação sendo que esta ocorre por hidrólise ou oxidação, e também, são estáveis sob a luz solar e temperatura ambiente (AZNAR-ALEMANY; ELJARRAT, 2020; FARIA, 2009). Desta forma, garantem que seu residual permaneça por mais tempo na superfície foliar.

Nesse sentido, os resultados deste estudo confirmam que embora estes inseticidas sejam aplicados via foliar nos estágios fenológicos de crescimento vegetativo, os resíduos podem permanecer nas folhas ou até mesmo, no caso de

inseticidas sistêmicos como os neonicotinoides, são translocados para as flores da própria cultura (KRUPKE et al., 2012). Ademais, as recomendações dos fabricantes indicam a realização de duas ou três aplicações, com intervalos que variam entre 10 e 15 dias, conforme o produto e a incidência de insetos (AGROFIT, 2021). Essas indicações aumentam o risco aos polinizadores por estes permanecerem por um período maior na superfície das plantas e também, quando translocados, acumularem por um maior tempo nas flores.

Outro fator relevante a ser considerado é que apesar da sobrevivência das operárias de *A. mellifera* ser maior conforme mais distante o tempo da aplicação do produto no campo até o contato com as abelhas, em todos os tratamentos houve diferença em relação ao tratamento controle. Esses resultados demonstram que apesar das perdas decorrentes das condições ambientais, da volatilização e degradação dos produtos ocorridas no campo, ainda há a presença destes mesmo que em concentrações muito baixas. Estes resultados vão ao encontro a estudos que verificam os efeitos subletais de inseticidas neonicotinoides e piretroides sobre esta espécie de polinizador.

Uma vez a abelha em contato com doses mais baixas (residual) de agrotóxicos presentes no material vegetal, a morte imediata pode não ocorrer, porém pode comprometer as habilidades cognitivas destas, comprometendo seu retorno a colônia ou quando conseguem retornar, levam consigo traços desses produtos que podem ocasionar o desequilíbrio da colônia (AMARO; GODINHO, 2012; CATAE et al., 2018a; TOSI; NIEH, 2017; WOLFF; REIS; SANTOS, 2008). Entre as habilidades cognitivas estão aprendizado e memória, assim, em ensaio de aprendizado por condicionamento de memória olfativa, abelhas alimentadas com 0,02 ng/mL de imidacloprido, durante 11 dias, apresentaram redução de aprendizado e memória, além disso, ao serem verificados os genes relacionados a estes fatores, 130 foram expressos negativamente (LI et al., 2019). Este efeito pode ocorrer quando as abelhas entram em contato com baixas doses do produto, dias após este ser aplicado na cultura, como verificado no presente trabalho.

Outro aspecto comportamental que pode sofrer interferência com doses subletais é a atividade de voo. Abelhas forrageiras alimentadas com aproximadamente 5,98 ng/mL de imidacloprido, apresentaram redução na velocidade, distância e tempo de voo (BLANKEN; VAN LANGEVELDE; VAN DOOREMALEN, 2015). Nesse sentido, quando as abelhas não têm sua habilidade de memória e voo

totalmente comprometidos, as mesmas retornam à colônia com traços de produtos que serão incorporados na dieta das demais, podendo, deste modo, comprometer outros membros da colônia.

Larvas alimentadas com 5 µg/kg de imidacloprido tiveram forrageamento precoce na fase adulta, redução de voos de orientação e diminuição dos voos de forrageamento (COLIN et al., 2019b). Além disso, a alimentação das larvas com 20 ppb de imidacloprido interfere nos diferentes estágios de desenvolvimento, diminuindo a resposta imune na fase de pupa, e aumento desta resposta em abelhas recém emergidas, podendo comprometer a saúde das abelhas (TESOVNIK et al., 2019).

Além de interferir em abelhas operárias, a alimentação de colônias de abelhas com solução contendo imidacloprido pode comprometer a postura de ovos das rainhas e também sua atividade locomotora, mesmo em baixas concentrações (10 ppb) (WU-SMART; SPIVAK, 2016). Além disso, estudos demonstram que este neonicotinoide a 5 ppb, interfere negativamente na qualidade do sêmen de zangões, principalmente quanto a motilidade e viabilidade (CIERESZKO et al., 2017).

Não existem dados de efeitos subletais ocasionados por beta-ciflutrina, mas ao avaliar a exposição de abelhas a solução contendo 1 ppm de ciflutrina foi observado que o mesmo interferiu na locomoção das abelhas, atividade de auto-limpeza (*grooming*) e também no batimento de asas (OLIVER et al., 2015). Outros piretroides, como a deltametrina, apresentam efeitos subletais relacionados a redução na capacidade de aprendizado e memória de *A. mellifera* (DECOURTYE et al., 2005), redução na fecundidade da abelha rainha, diminuição no desenvolvimento abelhas jovens até a fase adulta (DAI et al., 2010); ou como a lambda-cialotrina causando danos celulares no intestino médio, danos severos nas glândulas hipofaríngeas e também alterações no cérebro (ARTHIDORO DE CASTRO et al., 2020). Estas alterações podem interferir de maneira direta no comportamento e a fisiologia das abelhas, causando, mesmo que a longo prazo, o desequilíbrio das colônias.

Os piretroides apresentam maior toxicidade aos insetos, de maneira geral, quando comparados aos neonicotinoides, sendo eficientes no controle de insetos-praga com menor quantidade de ingrediente ativo (FARIA, 2009). Os neonicotinoides por sua vez, apresentam menor custo e por isso são amplamente difundidos na agricultura. Em ambos os casos, tornando-se prejudiciais aos polinizadores. Assim, os neonicotinoides e os piretroides estão entre os principais grupos químicos com

resíduos encontrados em abelhas e em seus subprodutos (JOHNSON et al., 2010; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014; SCHMUCK; LEWIS, 2016).

Os produtos contendo imidacloprido e imidacloprido + beta-ciflutrina, testados neste estudo, permanecem com residual de aproximadamente 10 dias nas culturas no campo, enquanto o produto contendo apenas beta-ciflutrina permanece com residual de aproximadamente 14 dias. Além disso, seus efeitos em doses subletais podem interferir no comportamento e na fisiologia de *A. mellifera* comprometendo a colônia a médio e longo prazo, como observado em outros estudos. Esses resultados nos levam a buscar novas estratégias de manejo utilizando produtos mais seguros para as abelhas e que sejam eficazes no controle de pragas, principalmente, para a cultura da canola, cujos estágios fenológicos, como floração e enchimento de grãos, se sobrepõem e não ocorrem de forma homogênea no campo.

5.5 CONCLUSÃO

Todos os produtos testados permaneceram com residual nas estruturas vegetais, aos quais as abelhas são expostas, causando redução na longevidade das operárias de *A. mellifera* africanizada mesmo que em quantidade menos acentuada depois 09 dias de aplicação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos sobre a relação dos agrotóxicos e as abelhas são crescentes em todo o mundo. Uma vez que estes, além provocarem a letalidade destes importantes polinizadores dos agroecossistemas, podem ainda, causar alterações fisiológicas e comportamentais, mesmo em doses subletais. Os Estados Unidos da América, França e Inglaterra são os países mais influentes em pesquisas relacionadas a este assunto, com destaque para as instituições de pesquisa INRA (França) e USDA (EUA). Porém, ainda há muito o que ser estudado, devido ao vasto número de agrotóxicos existentes no mercado e também a possível contribuição destes produtos para a Desordem do Colapso da Colônias, que não possui causas claras.

Dentre as publicações existentes sobre a relação de agrotóxicos e as abelhas, ressalta-se o crescente número de estudos avaliando os efeitos subletais de neonicotinoídeos. Os resultados destes trabalhos apontam para a susceptibilidade das abelhas a este grupo químico de inseticida, sejam elas em fatores fisiológicos, de desempenho da colônia ou comportamentais, os quais podem comprometer o funcionamento da colônia a médio e longo prazo.

Os inseticidas contendo imidacloprido e beta-ciflutrina permanecem com residual na cultura da canola, os quais podem causar redução na sobrevivência de abelhas mesmo depois de mais de uma semana da aplicação. Assim, estes produtos devem ser evitados neste cultivo agrícola, prezando pela utilização de produtos seletivos a abelhas, tendo em vista que os estágios de floração e enchimento de grãos se sobrepõem, momento este, de visitação floral, mas também da ocorrência de insetos-praga que podem comprometer a produtividade.

Por fim, sabendo da importância econômica e ambiental das abelhas e também dos problemas causados pelos agrotóxicos a estes polinizadores, mais pesquisas devem ser realizadas. Destacam-se pesquisas relacionadas a métodos de controle de pragas alternativos aos químicos, ou mesmo de controle químico, mas que sejam mais seletivos aos polinizadores e a outros insetos benéficos. Além disso, verifica-se a necessidade de aumento do fomento para estas linhas de pesquisa, as quais podem ser interligadas para o delineamento de estratégias para o controle integrado de pragas, garantindo um manejo mais sustentável aos agroecossistemas, conseqüentemente mais seguros para as abelhas e para os seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ABDELKADER, F. BEN et al. Effects of clothianidin on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in honey bee drone semen. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 5, p. 740–745, 2019.
- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 7 set. 2020.
- AIZEN, M. A.; HARDER, L. D. The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. **Current Biology**, v. 19, n. 11, p. 915–918, 2009.
- ALBURAKI, M. et al. Neonicotinoid-Coated Zea mays Seeds Indirectly Affect Honeybee Performance and Pathogen Susceptibility in Field Trials. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0125790, 2015.
- ALBURAKI, M. et al. Performance of honeybee colonies located in neonicotinoid-treated and untreated cornfields in Quebec. **Journal of Applied Entomology**, v. 141, n. 1–2, p. 112–121, 2016.
- ALBURAKI, M. et al. Honey bee survival and pathogen prevalence: from the perspective of landscape and exposure to pesticides. **Insects**, v. 9, n. 2, p. 1–15, 2018.
- ALI, M. et al. In search of the best pollinators for canola (*Brassica napus* L.) production in Pakistan. **Applied Entomology and Zoology**, v. 46, n. 3, p. 353–361, 2011.
- ALIOUANE, Y. et al. Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: Effects on behavior. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 1, p. 113–122, 2009.
- ALKASSAB, A. T.; KIRCHNER, W. H. Impacts of chronic sublethal exposure to clothianidin on winter honeybees. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 5, p. 1000–10, 2016.
- ALKASSAB, A. T.; KIRCHNER, W. H. Assessment of acute sublethal effects of clothianidin on motor function of honeybee workers using video-tracking analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 200–205, 2018.
- ALPTEKIN, S. et al. Induced thiacloprid insensitivity in honeybees (*Apis mellifera* L.) is associated with up-regulation of detoxification genes. **Insect Molecular Biology**, v. 25, n. 2, p. 171–180, 2016.
- AMARO, P.; GODINHO, J. Pesticidas e abelhas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 53–62, 2012.
- ARENA, M. et al. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance beta-cyfluthrin. **EFSA Journal**, v. 18, n. 4, p. 1–30, 2020.
- ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 324–334, 2014.

ARTHIDORO DE CASTRO, M. B. et al. Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda-cyhalothrin. **Chemosphere**, v. 248, 2020.

AZNAR-ALEMANY, O.; ELJARRAT, E. Introduction to Pyrethroid Insecticides: Chemical Structures, Properties, Mode of Action and Use. **Handbook of Environmental Chemistry**, v. 92, p. 1–16, 2020.

AZPIAZU, C. et al. Chronic oral exposure to field-realistic pesticide combinations via pollen and nectar: effects on feeding and thermal performance in a solitary bee. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

BALIEIRA, K. V. B. et al. Imidacloprid-induced oxidative stress in honey bees and the antioxidant action of caffeine. **Apidologie**, v. 49, p. 562–572, 2018.

BARGAŃSKA, Ż.; ŚLEBIODA, M.; NAMIEŚNIK, J. Honey bees and their products - bioindicators of environmental contamination. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 3, p. 235–248, 2015.

BARTLING, M. T.; VILCINSKAS, A.; LEE, K. Z. Sub-lethal doses of clothianidin inhibit the conditioning and biosensory abilities of the western honeybee *Apis mellifera*. **Insects**, v. 10, p. 340, 2019.

BATTISTI, L. et al. Is glyphosate toxic to bees ? A meta-analytical review. **Science of the Total Environment**, v. 767, p. 1–11, 2021.

BEBANE, P. S. A. et al. The effects of the neonicotinoid imidacloprid on gene expression and DNA methylation in the buff-tailed bumblebee *Bombus terrestris*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 286, n. 1905, 2019.

BELL, H. C. et al. The novel butenolide pesticide flupyradifurone does not alter responsiveness to sucrose at either acute or chronic short-term field-realistic doses in the honey bee, *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, v. 76, n. 1, p. 111–117, 2020.

BLACQUIÈRE, T. et al. Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012.

BLANKEN, L. J.; VAN LANGEVELDE, F.; VAN DOOREMALEN, C. Interaction between *Varroa destructor* and imidacloprid reduces flight capacity of honeybees. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1820, 2015.

BLOCHTEIN, B.; WITTER, S.; HALINSKI, R. **Plano de manejo para polinização da cultura da canola**. Rio de Janeiro0: [s.n.].

BLOT, N. et al. Glyphosate, but not its metabolite AMPA, alters the honeybee gut microbiota. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, p. 1–16, 2019.

BOILY, M. et al. Acetylcholinesterase in honey bees (*Apis mellifera*) exposed to neonicotinoids, atrazine and glyphosate: laboratory and field experiments. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 5603–5614, 2013.

BOYACK, K. W.; KLAVANS, R.; BÖRNER, K. Mapping the backbone of science. **Scientometrics**, v. 64, n. 3, p. 351–374, 2005.

BPBES. **Relatório Temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil**. 1. ed. Campinas: Rede Brasileira de Interações Planta-Polinizador, 2019.

CALATAYUD-VERNICH, P. et al. Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. **Environmental Pollution**, v. 241, p. 106–114, 2018.

CALDERONE, N. W. Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: Trend analysis of aggregate data for the period 1992-2009. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. 24–28, 2012.

CALVETE, E. O. et al. Polinização de morangueiro por *Apis mellifera* em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 181–188, 26 fev. 2010.

CARRILLO, M. P. et al. Influence of agrochemicals fipronil and imidacloprid on the learning behavior of *Apis mellifera* L. honeybees. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 35, n. 4, p. 431–434, 2013.

CARVALHO, F. P. Pesticides, environment, and food safety. **Food and Energy Security**, v. 6, n. 2, p. 48–60, maio 2017.

CARVALHO, S. et al. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 597–606, 2009.

CATAE, A. F. et al. Cytotoxic Effects of Thiamethoxam in the Midgut and Malpighian Tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE**, v. 77, p. 274–281, 2014.

CATAE, A. F. et al. MALDI-imaging analyses of honeybee brains exposed to a neonicotinoid insecticide. **Pest Management Science**, v. 75, n. 3, p. 607–615, 2018a.

CATAE, A. F. et al. Exposure to a sublethal concentration of imidacloprid and the side effects on target and nontarget organs of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Ecotoxicology**, v. 27, n. 2, p. 109–121, 2018b.

CELLI, G.; MACCAGNANI, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 1–3, 2003.

CHAIMANEE, V. et al. Sperm viability and gene expression in honey bee queens (*Apis mellifera*) following exposure to the neonicotinoid insecticide imidacloprid and the organophosphate acaricide coumaphos. **Journal of Insect Physiology**, v. 89, p. 1–8, 2016.

CHARRETON, M. et al. A locomotor deficit induced by sublethal doses of pyrethroid and neonicotinoid insecticides in the honeybee *Apis mellifera*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, p. 1–14, 2015.

CHEN, C. The CiteSpace Manual. **College of Computing and Informatics**, v. 103, n. 3, p. 1003–1022, 2014.

CHEN, C. et al. Managed honeybee colony losses of the Eastern honeybee (*Apis cerana*) in China (2011–2014). **Apidologie**, v. 48, n. 5, p. 692–702, 2017a.

CHEN, X. D. et al. Risk assessment of various insecticides used for management of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Florida citrus, against honey bee, *Apis mellifera*. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 3, p. 351–359, 2017b.

CHIARI, W. C. et al. Polinização por *Apis mellifera* em soja transgênica [Glycine max (L.) Merrill] Roundup Ready™ cv. BRS 245 RR e convencional cv. BRS 133. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 267–271, 2008.

CHITTKA, L.; THOMSON, J. D. **Cognitive Ecology of Pollination**. [s.l.] Cambridge University Press, 2001.

CHRISTEN, V. et al. Global transcriptomic effects of environmentally relevant concentrations of the neonicotinoids clothianidin, imidacloprid and thiamethoxam in the brain of honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 13, p. 7534–7544, 2018.

CHRISTEN, V. et al. Transcriptional and physiological effects of the pyrethroid deltamethrin and the organophosphate dimethoate in the brain of honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Pollution**, v. 244, p. 247–256, 2019a.

CHRISTEN, V. et al. A Vitellogenin Antibody in Honey Bees (*Apis mellifera*): Characterization and Application as Potential Biomarker for Insecticide Exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 074–1083, 2019b.

CHRISTEN, V.; BACHOFER, S.; FENT, K. Binary mixtures of neonicotinoids show different transcriptional changes than single neonicotinoids in honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Pollution**, v. 220, p. 1264–1270, 2016.

CHRISTEN, V.; FENT, K. Exposure of honey bees (*Apis mellifera*) to different classes of insecticides exhibit distinct molecular effect patterns at concentrations that mimic environmental contamination. **Environmental Pollution**, v. 226, p. 48–59, 2017.

CHRISTEN, V.; MITTNER, F.; FENT, K. Molecular effects of neonicotinoids in honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 7, p. 4071–4081, 2016.

CIERESZKO, A. et al. Sperm parameters of honeybee drones exposed to imidacloprid. **Apidologie**, v. 48, p. 211–222, 2017.

CLAUDIANOS, C. et al. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n. 5, p. 615–636, 2006.

COBRA, S. S. DE O. et al. Características florais e polinizadores na qualidade de frutos de cultivares de maracujazeiro-azedo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 1, p. 54–62, jan. 2015.

COLIN, T. et al. Long-term dynamics of honey bee colonies following exposure to chemical stress. **Science of the Total Environment**, v. 677, p. 660–670, 2019a.

COLIN, T. et al. Traces of a neonicotinoid induce precocious foraging and reduce foraging performance in honey bees. **Environmental Science and Technology**, v. 53, n. 14, p. 8252–8261, 2019b.

COLLISON, E. J. et al. Effects of neonicotinoid exposure on molecular and physiological indicators of honey bee immunocompetence. **Apidologie**, v. 49, p. 196–208, 2018.

COLOMBO, F. C. et al. Do *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* affect worker survival and the production of Africanized *Apis mellifera* queens? **Journal of Apicultural Research**, p. 1–10, 14 out. 2020.

COSTA-MAIA, F. M.; LOURENCO, D. A. L.; TOLEDO, V. D. A. A. DE. Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. n. October, 2010.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. Joboticabal: Funep, 2006.

CRESSWELL, J. E. et al. Differential sensitivity of honey bees and bumble bees to a dietary insecticide (imidacloprid). **Zoology**, v. 115, n. 6, p. 365–371, 2012.

CRESSWELL, J. E.; ROBERT, L. Clearance of ingested neonicotinoid pesticide (imidacloprid) in honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*). **Pest Management Science**, v. 70, n. 2, p. 332–337, 2013.

CRUZ LANDIM, C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. [s.l.] SciELO – Editora UNESP, 2008.

CUTLER, G. C. et al. A large-scale field study examining effects of exposure to clothianidin seed-treated canola on honey bee colony health, development, and overwintering success. **PeerJ**, v. 2, n. e652, p. 1–23, 2014.

DAI, P.-L. et al. Effects of sublethal concentrations of bifenthrin and deltamethrin on fecundity, growth, and development of the honeybee *Apis mellifera* ligustica. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 644–649, mar. 2010.

DAI, P. et al. Chronic toxicity of clothianidin, imidacloprid, chlorpyrifos, and dimethoate to *Apis mellifera* L. larvae reared in vitro. **Pest Management Science**, v. 75, n. 1, p. 29–36, 2019.

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**, v. 48, n. 2, p. 242–250, 2005.

DERECKA, K. et al. Transient Exposure to Low Levels of Insecticide Affects Metabolic Networks of Honeybee Larvae. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, 2013.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p.

81–106, 2007.

DI PRISCO, G. et al. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 46, p. 18466–18471, 2013.

DIETZSCH, A. C. et al. Does winter oilseed rape grown from clothianidin-coated seeds affect experimental populations of mason bees and bumblebees? A semi-field and field study. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v. 5, p. 223–238, 2019.

DIVELY, G. P. et al. Assessment of Chronic Sublethal Effects of Imidacloprid on Honey Bee Colony Health. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0118748, 2015.

EIRI, D. M.; NIEH, J. C. A nicotinic acetylcholine receptor agonist affects honey bee sucrose responsiveness and decreases waggle dancing A nicotinic acetylcholine receptor agonist affects honey bee sucrose responsiveness and decreases waggle dancing. **Journal of Experimental Biology**, v. 215, p. 2022–2029, 2016.

ELLIS, J. The Honeybee Crisis. **Outlooks on Pest Management**, v. 23, p. 35–40, 2012.

ENGEL, P.; MARTINSON, V. G.; MORAN, N. A. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 27, p. 11002–11007, 2012.

ESTESEN, B. J. et al. Residual Life and Toxicity to Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) of Selected Insecticides Applied to Cotton in Arizona. **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 3, p. 700–709, 1992.

FARIA, A. B. DE C. Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais. **Ambiência**, v. 5, n. 2, p. 345–358, 2009.

FELSENBERG, J. et al. Behavioural Pharmacology in Classical Conditioning of the Proboscis Extension Response in Honeybees (*Apis mellifera*). **Journal of Visualized Experiments**, v. 47, p. 1–5, 2011.

FENT, K. et al. Insecticides cause transcriptional alterations of endocrine related genes in the brain of honey bee foragers. **Chemosphere**, v. 260, p. 127542, 2020a.

FENT, K. et al. The neonicotinoid thiacloprid causes transcriptional alteration of genes associated with mitochondria at environmental concentrations in honey bees. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115297, 2020b.

FENT, K.; SCHMID, M.; CHRISTEN, V. Global transcriptome analysis reveals relevant effects of environmentally relevant concentrations of cypermethrin in honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Pollution**, v. 259, p. 1–26, 2019.

FISCHBACH, K.; PUTZKE, J.; SCHODER, D. Co-authorship networks in electronic markets research. **Electronic Markets**, v. 21, n. 1, p. 19–40, 2011.

FORFERT, N. et al. Neonicotinoid pesticides can reduce honeybee colony genetic

diversity. **PLoS ONE**, v. 12, n. 10, p. 1–14, 2017.

FREITAS, B. M.; SILVA, C. I. DA. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil. In: **Agricultura e Polinizadores**. São Paulo: Associação Brasileira de Estudos das Abelhas - A.B.E.L.H.A., 2015.

FRIEDLI, A. et al. The weakest link: Haploid honey bees are more susceptible to neonicotinoid insecticides. **Chemosphere**, v. 242, p. 125145, 2020.

FUZARO, L. et al. Floral visitors of canola (*Brassica napus* L .) hybrids in Cerrado Mineiro region , Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, p. 1–10, 2019.

GAJGER, I. T. et al. Control of *Varroa destructor* mite infestations at experimental apiaries situated in Croatia. **Diversity**, v. 12, n. 1, 2020.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GARFIELD, E. The History and Meaning of the Journal Impact Factor. **JAMA**, v. 295, n. 1, p. 90–93, 2006.

GARRATT, M. P. D. et al. The identity of crop pollinators helps target conservation for improved ecosystem services. **Biological Conservation**, v. 169, p. 128–135, 2014.

GASHOUT, H. A. et al. **Impact of sublethal exposure to synthetic and natural acaricides on honey bee (*Apis mellifera*) memory and expression of genes related to memory**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2020. v. 121

GAUTHIER, M. et al. Chronic exposure to imidacloprid or thiamethoxam neonicotinoid causes oxidative damages and alters carotenoid-retinoid levels in caged honey bees (*Apis mellifera*). **Scientific Reports**, n. October, p. 1–11, 2018.

GENERSCH, E. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 1, p. 87–97, 17 jun. 2010.

GHISI, N. DE C. et al. Glyphosate and its toxicology: A scientometric review. **Science of the Total Environment**, v. 733, p. 1–15, 2020.

GIANNINI, T. C. et al. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015.

GIANNINI, T. C. et al. Projected climate change threatens pollinators and crop production in Brazil. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. 1–13, 2017.

GILL, R. J.; RAMOS-RODRIGUEZ, O.; RAINE, N. E. Combined pesticide exposure severely affects individual-and colony-level traits in bees. **Nature**, v. 491, n. 7422, p. 105–108, 2012.

GIROLAMI, V. et al. Translocation of Neonicotinoid Insecticides From Coated Seeds to Seedling Guttation Drops: A Novel Way of Intoxication for Bees. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 5, p. 1808–1815, 2009.

GOMES, I. N. et al. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 1, p. 97–107, 2019.

GOÑALONS, C. M.; FARINA, W. M. Effects of Sublethal Doses of Imidacloprid on Young Adult Honeybee Behaviour. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–15, 2015.

GOULSON, D. et al. Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, 2015.

GRIGORI, P. **Apicultores brasileiros encontram meio bilhão de abelhas mortas em três meses.** [s.l: s.n.].

GRIXTI, J. C. et al. Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. **Biological Conservation**, v. 142, n. 1, p. 75–84, 2009.

HE, K.; ZHANG, J.; ZENG, Y. Knowledge domain and emerging trends of agricultural waste management in the field of social science: A scientometric review. **Science of the Total Environment**, v. 670, p. 236–244, 2019.

HEARD, M. S. et al. Comparative toxicity of pesticides and environmental contaminants in bees: Are honey bees a useful proxy for wild bee species? **Science of the Total Environment**, v. 578, p. 357–365, 2017.

HEIN LARS. Economic value of the polination service, a review across scales. **The Open Ecology Journal**, v. 2, n. Tansley 1935, p. 74–82, 2009.

HENRY, M. et al. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 348–350, 2012.

HESSELBACH, H. et al. **Chronic exposure to the pesticide flupyradifurone can lead to premature onset of foraging in honeybees *Apis mellifera*.** [s.l: s.n.]. v. 57

HESSELBACH, H.; SCHEINER, R. The novel pesticide flupyradifurone (Sivanto) affects honeybee motor abilities. **Ecotoxicology**, v. 28, n. 3, p. 354–366, 2019.

HIRSCH, J. E. An index to quantify an individual's scientific research output. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 46, p. 16569–16572, 2005.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. GLUTATIONA E ENZIMAS RELACIONADAS: PAPEL BIOLÓGICO E IMPORTÂNCIA EM PROCESSOS PATOLÓGICOS. **Química nova**, v. 31, n. 5, p. 1170–1179, 2008.

HUNG, K.-L. J. et al. The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 285, n. 1870, p. 20172140, 2018.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. et al. **Polinizadores no Brasil: Contribuição e Perspectivas para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais.** [s.l: s.n.].

INOURI-ISKOUNEN, A. et al. In vitro effects of imidacloprid on honey bee sperm : evaluation using computer-aided sperm analysis (CASA). **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 4, p. 343–349, 2020.

INRA. **Institut National de la Recherche Agronomique**.

IPBES. **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). [s.l.: s.n.].

IQBAL, J.; ALQARNI, A. S.; RAWEH, H. S. A. Effect of Sub-lethal Doses of Imidacloprid on Learning and Memory Formation of Indigenous Arabian Bee (*Apis mellifera jemenitica* Ruttner) Adult Foragers. **Neotropical Entomology**, v. 48, p. 373–380, 2019a.

IQBAL, J.; ALQARNI, A. S.; RAWEH, H. S. A. Effect of Sub-lethal Doses of Imidacloprid on Learning and Memory Formation of Indigenous Arabian Bee (*Apis mellifera jemenitica* Ruttner) Adult Foragers. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 3, p. 373–380, 2019b.

IWASA, T. et al. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, v. 23, n. 5, p. 371–378, 2004.

JACOB, C. R. DE O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 2019.

JACTEL, H. et al. Alternatives to neonicotinoids. **Environment International**, v. 129, n. January, p. 423–429, 2019.

JAUKER, F. et al. Pollination efficiency of wild bees and hoverflies provided to oilseed rape. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 14, n. 1, p. 81–87, 2012.

JONES, J. C. et al. Gut microbiota composition is associated with environmental landscape in honey bees. **Ecology and Evolution**, v. 8, p. 441–451, 2017.

KAPLAN, J. K. Colony Collapse Disorder: An Incomplete Puzzle. **Agricultural Research Magazine**, v. 60, n. 6, p. 1–5, 2012.

KARAHAN, A. et al. Sublethal imidacloprid effects on honey bee flower choices when foraging. **Ecotoxicology**, v. 24, p. pages2017–2025, 2015.

KETTERMAN, A. J.; SAISAWANG, C.; WONGSANTICHON, J. Insect glutathione transferases. **Drug Metabolism Reviews**, v. 43, n. 2, p. 253–265, 2011.

KINOSHITA, L. S. et al. Composição florística e síndromes de polinização e de dispersão da mata do Sítio São Francisco, Campinas, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 313–327, 2006.

KLEIN, A. M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303–313, 2007.

KRUPKE, C. H. et al. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, 2012.

KULHANEK, K. et al. A national survey of managed honey bee 2015 – 2016 annual colony losses in the USA. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 4, p. 328–340, 2017.

LAURENT, M. et al. A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses This report has been prepared by. v. 2014, n. April, 2015.

LE CONTE, Y. **Persones**.

LECLERCQ, G.; GENGLER, N.; FRANCIS, F. How human reshaped diversity in honey bees (*Apis mellifera* L.): a review. **Entomologie faunistique - Faunistic Entomology**, n. 2, p. 71, 2018.

LEE, F. J. et al. Saccharide breakdown and fermentation by the honey bee gut microbiome. **Environmental Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 796–815, 2014.

LI, M.; PORTER, A. L.; WANG, Z. L. Evolutionary trend analysis of nanogenerator research based on a novel perspective of phased bibliographic coupling. **Nano Energy**, v. 34, p. 93–102, 2017.

LI, Z. et al. Differential physiological effects of neonicotinoid insecticides on honey bees: A comparison between *Apis mellifera* and *Apis cerana*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 140, p. 1–8, 2017.

LI, Z. et al. Brain transcriptome of honey bees (*Apis mellifera*) exhibiting impaired olfactory learning induced by a sublethal dose of imidacloprid. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 156, p. 36–43, 2019.

LIBARDONI, G. **EFEITO DE *Bacillus thuringiensis* E PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS SINTÉTICOS NA LONGEVIDADE DE OPERÁRIAS *Apis mellifera* L. (HYMENOPTERA: APIDAE)**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

LIBARDONI, G. et al. Possible interference of *Bacillus thuringiensis* in the survival and behavior of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). **Scientific Reports**, p. 1–9, 2021.

LIU, S. et al. Enantioselective Olfactory Effects of the Neonicotinoid Dinotefuran on Honey Bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 43, p. 12105–12116, 2019.

LIU, Y. et al. Thiacloprid exposure perturbs the gut microbiota and reduces the survival status in honeybees. **Journal of Hazardous Materials**, v. 389, p. 121818, 2020.

LOWRANCE, R. .; STINNER, B. R.; THRUPP, L. A. **Agricultural ecosystems: unifying concepts**. New York: John Wiley, 1984.

LU, C.; WARCHOL, K. M.; CALLAHAN, R. A. Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder. **Bulletin of Insectology**, v. 67, n. 1, p. 125–130, 2014.

LUNARDI, J. S.; ZALUSKI, R.; ORSI, R. O. Evaluation of Motor Changes and Toxicity of Insecticides Fipronil and Imidacloprid in Africanized Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 64, n. 1, p. 50–56, 2017.

MALESZKA, R. The social honey bee in biomedical research: Realities and expectations. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 12, p. 7–13, 2014.

MAP. **Mapeamento De Abelhas Participativo Colmeia Viva. Relatório 3 anos 2014-2017.** Disponível em: <<https://www.colmeiaviva.com.br/wp-content/uploads/2019/10/RelatorioMAP.pdf>>. Acesso em: 25 nov 2020.

MATSUDA, K. et al. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 11, p. 573–580, nov. 2001.

MEIKLE, W. G. et al. Sublethal Effects of Imidacloprid on Honey Bee Colony Growth and Activity at Three Sites in the U.S. **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, p. e0168603, 2016.

MEIKLE, W. G.; WEISS, M. Monitoring Colony-level Effects of Sublethal Pesticide Exposure on Honey Bees. **Journal of Visualized Experiments**, n. November, p. 1–10, 2017.

MOHER, D. et al. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. **PLoS Medicine**, v. 6, n. 7, p. e1000097, 21 jul. 2009.

MONCHANIN, C. et al. Hazard of a neonicotinoid insecticide on the homing flight of the honeybee depends on climatic conditions and Varroa infestation. **Chemosphere**, v. 224, p. 360–368, 2019.

MORANDIN, L. A.; WINSTON, M. L. Wild bee abundance and seed production in conventional, organic, and genetically modified canola. **Ecological Applications**, v. 15, n. 3, p. 871–881, 2005.

MORFIN, N. et al. Sublethal exposure to clothianidin during the larval stage causes long-term impairment of hygienic and foraging behaviours of honey bees. **Apidologie**, v. 50, n. 5, p. 595–605, 2019.

MULLIN, C. A. et al. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3, 2010.

MUSTARD, J. A. et al. Honeybees fail to discriminate floral scents in a complex learning task after consuming a neonicotinoid pesticide. **Journal of Experimental Biology**, v. 223, p. 1–8, 2020.

NARAHASHI, T. Neuronal Ion Channels as the Target Sites of Insecticides. **Pharmacology & Toxicology**, v. 79, n. 1, p. 1–14, jul. 1996.

NIETO, A. et al. **European Red List of Bees.** [s.l.: s.n.].

NOCELLI, R. C. F. et al. Riscos de Pesticidas sobre as Abelhas. **Embrapa**, p. 1–17, 2012.

NRCS. **Using Farm Bill Programs for Pollinator Conservation**. Washington: [s.n.].

ODUM, E. Properties of agroecosystems. In: **Agricultural ecosystems: unifying concepts**. New York: John Wiley, 1984.

OLAWUMI, T. O.; CHAN, D. W. M. A scientometric review of global research on sustainability and sustainable development. **Journal of Cleaner Production**, v. 183, p. 231–250, 2018.

OLIVEIRA, J. E. M. DE; NICODEMO, D.; OLIVEIRA, F. F. DE. Contribuição da polinização entomófila para a produção de frutos de aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 1, p. 56–65, mar. 2015.

OLIVEIRA, M. O. Declínio populacional das abelhas polinizadoras de culturas agrícolas. **ACTA Apícola Brasilica**, v. 3, n. 2, p. 01, 14 dez. 2015.

OLIVEIRA, R. A. et al. Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v. 29, n. 10, p. 1122–1133, out. 2014.

OSTERMAN, J. et al. Clothianidin seed-treatment has no detectable negative impact on honeybee colonies and their pathogens. **Nature Communications**, v. 10, n. 692, p. 1–13, 2019.

OUYANG, W. et al. Heavy metal loss from agricultural watershed to aquatic system: A scientometrics review. **Science of the Total Environment**, v. 637–638, p. 208–220, 2018.

PALEOLOG, J. et al. Imidacloprid markedly affects hemolymph proteolysis, biomarkers, DNA global methylation, and the cuticle proteolytic layer in western honeybees. **Apidologie**, v. 51, p. 620–630, 2020.

PESHIN, R. et al. **Integrated Pest Management: Innovation-Development Process**. 1. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009.

PESHIN, R.; ZHANG, W. J. Integrated Pest Management and Pesticide Use. In: PIMENTEL, D.; PESHIN, R. (Eds.). **Integrated Pest Management: Pesticide problems**. Netherlands: Springer, 2014. p. 1–46.

PIIROINEN, S.; GOULSON, D. Chronic neonicotinoid pesticide exposure and parasite stress differentially affects learning in honeybees and bumblebees. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1828, p. 1–8, 2016.

PILLING, E. et al. A Four-Year Field Program Investigating Long-Term Effects of Repeated Exposure of Honey Bee Colonies to Flowering Crops Treated with Thiamethoxam. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, p. e77193, 2013.

PIMENTEL, D. Pesticides and pest control. In: PESHIN, R.; DHAWAN, A. K. (Eds.). **Integrated Pest Management: Innovation-Development Process**. 1. ed. Netherlands: Springer, 2009. p. 83–87.

PINTO, B. G. S. et al. Occupational exposure to pesticides: Genetic danger to

farmworkers and manufacturing workers – A meta-analytical review. **Science of the Total Environment**, v. 748, p. 141382, 2020.

PIRES, C. S. S. et al. Weakness and collapse of bee colonies in Brazil: Are there cases of CCD? **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422–442, 2016.

PIRK, C. W. W. et al. A survey of managed honey bee colony losses in the Republic of South Africa - 2009 to 2011. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 1, p. 35–42, 2014.

PIZZAIA, W. C. DA S. et al. Toxicological and morphological analysis of Africanized *Apis mellifera* selected for tolerance to the neonicotinoid thiamethoxam. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e143102122109, 2021.

POHORECKA, K. et al. The exposure of honey bees to pesticide residues in the hive environment with regard to winter colony losses. **Journal of Apicultural Science**, v. 61, n. 1, p. 105–125, 2017.

POTTS, S. G. et al. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010.

POTTS, S. G. **Status and trends of European pollinators: Key findings of the STEP project**. Sofia, Bulgaria: Pensoft, 2015.

POURIS, A. Scientometric research in South Africa and successful policy instruments. **Scientometrics**, v. 91, n. 2, p. 317–325, 2012.

PRISMA. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 2, p. 335–342, jun. 2015.

QUIGLEY, T. P.; AMDAM, G. V.; HARWOOD, G. H. Honey bees as bioindicators of changing global agricultural landscapes. **Current Opinion in Insect Science**, v. 35, p. 132–137, 2019.

RAMOS, J. M.; CARVALHO, N. C. DE. Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 6, n. 10, p. 1–21, 2007.

RAYMANN, K. et al. Imidacloprid Decreases Honey Bee Survival Rates but Does Not Affect the Gut Microbiome. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 13, p. 1–13, 2018.

ROLKE, D. et al. Large-scale monitoring of effects of clothianidin-dressed oilseed rape seeds on pollinating insects in Northern Germany: effects on honey bees (*Apis mellifera*). **Ecotoxicology**, v. 25, p. 1648–1665, 2016.

ROSA, A. DE S.; BLOCHTEIN, B.; LIMA, D. K. Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 2, p. 255–259, abr. 2011.

ROUZÉ, R. et al. The honeybee gut microbiota is altered after chronic exposure to different families of insecticides and infection by *Nosema ceranae*. **Microbes and**

Environments, v. 34, n. 3, p. 226–233, 2019.

RUCKER, R. R.; THURMAN, W. N.; BURGETT, M. Honey Bee Pollination Markets and the Internalization of Reciprocal Benefits. **American Journal of Agricultural Economics**, v. 94, n. 4, p. 956–977, jul. 2012.

RUCKER, R.; THURMAN, W. Colony Collapse Disorder: The Market Response to the Bee Disease. **PERC Policy Series**, n. PS-50, p. 1–31, 2012.

RUNDLÖF, M. et al. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. **Nature**, v. 521, n. 7550, p. 77–80, 2015.

SÁNCHEZ-BAYO, F. et al. Are bee diseases linked to pesticides? - A brief review. **Environment International**, v. 89–90, p. 7–11, 2016.

SANCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Pesticide residues and bees - A risk assessment. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

SANDROCK, C. et al. Impact of Chronic Neonicotinoid Exposure on Honeybee Colony Performance and Queen Supersedure. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e103592, 2014.

SANFORD, M. T. Pollination of Citrus by Honey Bees. **University of Florida**, p. 1–6, 2011.

SCHNEIDER, C. et al. RFID Tracking of Sublethal Effects of Two Neonicotinoid Insecticides on the Foraging Behavior of *Apis mellifera*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2012.

SCHUERMANS, N.; MEEUS, B.; DE MAESSCHALCK, F. Is there a world beyond the Web of Science? Publication practices outside the heartland of academic geography. **Area**, v. 42, n. 4, p. 417–424, 2010.

SHARMA, D. et al. Beekeeping Practices for Management of *Apis mellifera*. In: GUPTA, R. K. (Ed.). **Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security**. [s.l.] Springer Science, 2014. p. 171–191.

SHI, J. et al. Effects of sublethal acetamiprid doses on the lifespan and memory-related characteristics of honey bee (*Apis mellifera*) workers. **Apidologie**, v. 50, n. 4, p. 553–563, 2019.

SHI, J. et al. Exposure to acetamiprid influences the development and survival ability of worker bees (*Apis mellifera* L.) from larvae to adults. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115345, 2020a.

SHI, J. et al. Sublethal acetamiprid doses negatively affect the lifespans and foraging behaviors of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers. **Science of the Total Environment**, v. 738, p. 139924, 2020b.

SHI, T. et al. Sublethal Effects of the Neonicotinoid Insecticide Thiamethoxam on the Transcriptome of the Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). **Apiculture & Social Insects**, n. X, p. 1–7, 2017a.

SHI, T. et al. Influence of the Neonicotinoid Insecticide Thiamethoxam on miRNA Expression in the Honey Bee (Hymenoptera : Apidae). **Journal of Insect Science**, v. 17, n. 96, p. 1–5, 2017b.

SIEDE, R. et al. Performance of honey bee colonies under a long-lasting dietary exposure to sublethal concentrations of the neonicotinoid insecticide thiacloprid †. **Pest Management Science published**, v. 73, p. 1334–1344, 2017.

SIEFERT, P. et al. Chronic within-hive video recordings detect altered nursing behaviour and retarded larval development of neonicotinoid treated honey bees. **Scientific Reports**, v. 10, n. 8727, p. 1–15, 2020.

SIHAG, R. C. Pollination, pollinators and pollination modes: ecological and economic importance. In: **The pollination of cultivated plants: a compendium for practitioners**. Roma: Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO), 2018.

SIMON-DELISO, N. et al. Systemic insecticides (Neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 5–34, 2015.

SINGH, N. S. et al. Pesticide Contamination and Human Health Risk Factor. In: **Modern Age Environmental Problems and their Remediation**. [s.l.] Springer, 2017.

SIVITER, H. et al. Quantifying the impact of pesticides on learning and memory in bees. **Journal of Applied Ecology**, v. 55, n. 6, p. 2812–2821, 10 nov. 2018.

SMET, L. DE et al. Stress indicator gene expression profiles , colony dynamics and tissue development of honey bees exposed to sub-lethal doses of imidacloprid in laboratory and field experiments. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. e0171529, 2017.

SODERLUND, D. M. et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v. 171, n. 1, p. 3–59, fev. 2002.

SONG, J.; ZHANG, H.; DONG, W. A review of emerging trends in global PPP research: analysis and visualization. **Scientometrics**, v. 107, n. 3, p. 1111–1147, 2016.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: **Soja Manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga**. Londrina: Embrapa Soja, 2012.

SØVIK, E.; CORNISH, J. L.; BARRON, A. B. Cocaine Tolerance in Honey Bees. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. 1–10, 2013.

SRINIVASAN, M. V. Honey Bees as a Model for Vision, Perception, and Cognition. **Annual Review of Entomology**, v. 55, n. 1, p. 267–284, 2010.

STANLEY, J. et al. Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honeybees, *Apis cerana* and *A. mellifera* through laboratory, semi-field and field studies. **Chemosphere**, v. 119, p. 668–674, jan. 2015.

STRAUB, L. et al. Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect

contraceptives. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1835, 27 jul. 2016.

TACKENBERG, M. C. et al. Neonicotinoids disrupt circadian rhythms and sleep in honey bees. **Scientific Reports**, p. 1–10, 2020.

TANIWAKI, M. H. et al. Understanding mycotoxin contamination across the food chain in Brazil: Challenges and opportunities. **Toxins**, v. 11, n. 7, p. 1–17, 2019.

TAUTZ, J. **O Fenômeno das abelhas**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

TAVARES, D. A. et al. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. **Environmental Pollution**, v. 229, p. 386–393, 2017.

TEETERS, B. S. et al. Using Video-Tracking to Assess Sublethal Effects of Pesticides on Honey Bees (*Apis mellifera* L.) Using Video-Tracking to Assess Sublethal Effects of Pesticides on Honey Bees (*Apis mellifera* L.). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1349–1354, 2012.

TEICHROEW, J. L. et al. Is China ' s unparalleled and understudied bee diversity at risk ? **Biological Conservation**, 2016.

TESOVNIK, T. et al. Immune gene expression in developing honey bees (*Apis mellifera* L.) simultaneously exposed to imidacloprid and *Varroa destructor* in laboratory conditions. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 5, p. 730–739, 2019.

TESOVNIK, T. et al. Exposure of honey bee larvae to thiamethoxam and its interaction with *Nosema ceranae* infection in adult honey bees. **Environmental Pollution**, v. 256, n. xxxx, 2020.

THANY, S. H. et al. Similar comparative low and high doses of deltamethrin and acetamiprid differently impair the retrieval of the proboscis extension reflex in the forager honey bee (*Apis mellifera*). **Insects**, v. 6, n. 4, p. 805–814, 2015.

THOMPSON, H. et al. Thiamethoxam : Assessing flight activity of honeybees foraging on treated oilseed rape using radio frequency identification technology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 385–393, 2016.

TISON, L. et al. Effects of sublethal doses of thiacloprid and its formulation Calypso ® on the learning and memory performance of honey bees. **Journal of Experimental Biology**, v. 220, p. 3695–3705, 2017.

TISON, L. et al. The neonicotinoid clothianidin impairs memory processing in honey bees. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, n. May, p. 139–145, 2019.

TOMASETTO, F. et al. Intensified agriculture favors evolved resistance to biological control. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 15, p. 3885–3890, 2017.

TOMÉ, H. V. V. et al. Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 113420, 2020.

TOMÉ, H. V. V. et al. Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bee. **Environmental Pollution**, v. 256, p. 1–49, 2019.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247–268, 2005.

TONG, L.; NIEH, J. C.; TOSI, S. Combined nutritional stress and a new systemic pesticide (flupyradifurone, Sivanto®) reduce bee survival, food consumption, flight success, and thermoregulation. **Chemosphere**, v. 237, p. 124408, 2019.

TOSI, S.; BURGIO, G.; NIEH, J. C. A common neonicotinoid pesticide , thiamethoxam , impairs honey bee flight ability. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1201, p. 1–8, 2017.

TOSI, S.; NIEH, J. C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, alters honey bee activity, motor functions, and movement to light. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017.

USDA. **Survey of Honey Bee Pests and Diseases.**

VAN DER SLUIJS, J. P. et al. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 5, n. 3–4, p. 293–305, 2013.

VANENGELSDORP, D. et al. Colony collapse disorder: A descriptive study. **PLoS ONE**, v. 4, n. 8, 2009.

VANENGELSDORP, D. et al. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. 1–23, 2017.

VÁZQUEZ, D. E. et al. Chronic exposure to glyphosate induces transcriptional changes in honey bee larva: A toxicogenomic study. **Environmental Pollution**, v. 261, p. 114148, 2020.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. 117–124, 2008.

VON FRISCH, K.; LINDAUER, M. Language and Orientation of the Honey Bee. **Annual Review of Entomology**, v. 1, p. 45–58, 1956.

WAGNER, D. L. Insect Declines in the Anthropocene. 2020.

WANG, L. et al. The impacts of transportation infrastructure on sustainable development: Emerging trends and challenges. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 6, 2018.

WATSON, K.; STALLINS, J. A. Honey Bees and Colony Collapse Disorder: A Pluralistic Reframing. **Geography Compass**, v. 10, n. 5, p. 222–236, maio 2016.

WEGENER, J. et al. Secondary biomarkers of insecticide-induced stress of honey bee colonies and their relevance for overwintering strength. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 132, p. 379–389, 2016.

WHITEHORN, P. R. et al. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 351–352, 2012.

WILLIAMS, G. R. et al. Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens. **Scientific Reports**, v. 5, n. 14621, p. 1–8, 2015.

WILLIAMSON, S. M.; BAKER, D. D.; WRIGHT, G. A. Acute exposure to a sublethal dose of imidacloprid and coumaphos enhances olfactory learning and memory in the honeybee *Apis mellifera*. **Invertebrate Neuroscience**, v. 13, p. 63–70, 2013.

WILLIAMSON, S. M.; WILLIS, S. J.; WRIGHT, G. A. Exposure to neonicotinoids influences the motor function of adult worker honeybees. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 1409–1418, 2014.

WILLIAMSON, S. M.; WRIGHT, G. A. Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. **Journal of Experimental Biology**, v. 216, p. 1799–1807, 2013.

WINFREE, R.; GROSS, B. J.; KREMEN, C. Valuing pollination services to agriculture. **Ecological Economics**, v. 71, n. 1, p. 80–88, 2011.

WOLFF, L. F.; REIS, V. D. A. DOS; SANTOS, R. S. S. DOS. **Abelhas melíferas: bioindicadores de qualidade ambiental e de sustentabilidade da agricultura familiar de base ecológica**. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2008.

WOOD, S. C. et al. Comparative chronic toxicity of three neonicotinoids on New Zealand packaged honey bees. **PLoS ONE**, v. 13, n. 1, p. e0190517., 2018.

WRIGHT, G. A.; SOFTLEY, S.; EARNSHAW, H. Low doses of neonicotinoid pesticides in food rewards impair short-term olfactory memory in foraging-age honeybees. **Scientific Reports**, n. June, p. 1–7, 2015.

WU-SMART, J.; SPIVAK, M. Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. **Scientific Reports**, v. 6, n. July, p. 1–11, 2016.

WU, M. et al. Gene expression changes in honey bees induced by sublethal imidacloprid exposure during the larval stage. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 88, p. 12–20, 2017.

WU, Y.; ZHENG, Y.; CHEN, Y. Honey bee (*Apis mellifera*) gut microbiota promotes host endogenous detoxification capability via regulation of P450 gene expression in the digestive tract. **Microbial biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 1201–1212, 2020.

YANG, Y. et al. Effects of three common pesticides on survival, food consumption and midgut bacterial communities of adult workers *Apis cerana* and *Apis mellifera*. **Environmental Pollution**, v. 249, p. 860–867, 2019.

YAO, J.; ZHU, Y. C.; ADAMCZYK, J. Responses of Honey Bees to Lethal and Sublethal Doses of Formulated Clothianidin Alone and Mixtures. **Apiculture and Social Insects Journal**, v. 111, n. 4, p. 1517–1525, 2018.

YUAN, G. et al. Fruit Tree Pollination Technology and Industrialization in China. In: CHAMBO, E. D. (Ed.). . **Beekeeping and Bee Conservation Advances in Research**. Rijeka, Croatia: [s.n.]. p. 242.

ZARRILLO, T. A.; STONER, K. A. The bee fauna of an Atlantic coastal plain tidal marsh community in southern New England, USA. **Journal of Melittology**, v. 86, p. 1–34, 2019.

ZHANG, E.; NIEH, J. C. The neonicotinoid imidacloprid impairs honey bee aversive learning of simulated predation The neonicotinoid imidacloprid impairs honey bee aversive learning of simulated predation. **Journal of Experimental Biology**, v. 218, p. 3199–3205, 2015.

ZHANG, W.; JIANG, F.; OU, J. Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. **Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences**, v. 1, n. 2, p. 125–144, 2011.

ZHANG, Z. Y. et al. Deltamethrin Impairs Honeybees (*Apis mellifera*) Dancing Communication. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 78, n. 1, p. 117–123, 2020a.

ZHANG, Z. Y. et al. Honeybees (*Apis mellifera*) modulate dance communication in response to pollution by imidacloprid. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 2020b.

ZHENG, H. et al. Honey bees as models for gut microbiota research. **Lab Animal**, v. 47, n. 11, p. 317–325, 2018.

ZHU, L. et al. Nitenpyram disturbs gut microbiota and influences metabolic homeostasis and immunity in honey bee (*Apis mellifera* L.). **Environmental Pollution**, v. 258, p. 113671, 2019.

ZHU, Y. C. et al. Synergistic toxicity and physiological impact of imidacloprid alone and binary mixtures with seven representative pesticides on honey bee (*Apis mellifera*). p. 1–16, 2017a.

ZHU, Y. C. et al. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). **PLOS ONE**, v. 12, n. 6, p. e0178421, 7 jun. 2017b.

ZHU, Y. C.; YAO, J.; ADAMCZYK, J. Long-term risk assessment on noneffective and effective toxic doses of imidacloprid to honeybee workers. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 1–2, p. 118–128, 2018.