

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/06/2028

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until June 22, 2028

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO CLORPIRIFÓS NAS GLÂNDULAS PRODUTORAS DE GELEIA REAL
DE ABELHAS *Apis mellifera* NA FASE NUTRIZ**

VICTOR PEREIRA FEST

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre
em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Junho 2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE MEDICINA
VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO CLORPIRIFÓS NAS GLÂNDULAS PRODUTORAS DE GELEIA REAL
DE ABELHAS *Apis mellifera* NA FASE NUTRIZ**

VICTOR PEREIRA FEST

Orientador: Prof. Dr. Assoc. Ricardo de Oliveira Orsi

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre
em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Junho 2026

F418e Fest, Victor Pereira
Efeito do clorpirifós nas glândulas produtoras de geleia real de abelhas *Apis mellifera* na fase nutriz / Victor Pereira Fest. -- Botucatu, 2026
52 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi

1. Abelhas. 2. Efeitos. 3. Agrotóxicos. 4. Morfologia. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DO CLORPIRIFÓS NAS GLÂNDULAS PRODUTORAS DE GELEIA REAL DE ABELHAS *Apis mellifera* NA FASE NUTRIZ

AUTOR: VICTOR PEREIRA FEST

ORIENTADOR: RICARDO DE OLIVEIRA ORSI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Mestre em Zootecnia, área: Nutrição e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Associado RICARDO DE OLIVEIRA ORSI (Participação Presencial)

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMVZ

Professor Doutor YAN SOUZA LIMA (Participação Virtual)

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) / Universidade de São Paulo

Profa. Dra. DARCLET TERESINHA MALERBO DE SOUZA (Participação Virtual)

Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Pernambuco (UFRPE) - Recife/PE

Botucatu, 22 de junho de 2026.

Claudia Cristina Moreci
Cláudia Cristina Moreci
Assistente Administrativo
Seção de Pós-Graduação / FMVZ

BIOGRAFIA DO AUTOR

Victor Pereira Fest, natural de Santo André, estado de São Paulo, é filho de Edson Fest e Patricia Adriana Pereira, nascido em 2 de dezembro de 1997. É graduado em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/Unesp), campus de Botucatu. Atualmente cursa o mestrado em Zootecnia na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/Unesp), campus de Botucatu.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Gostaria de agradecer ao meu orientador, professor e amigo Ricardo de Oliveira Orsi pela oportunidade e confiança depositado em mim para a realização do estágio e proporcionar conhecimento e experiências ótimas e que levarei para a vida toda.

Gostaria de agradecer aos meus amigos do grupo NECTAR Iloran, Flavio, Guilherme, Jaine e Dinho, que ajudaram direta e indiretamente, pelo apoio e auxílio durante minhas pesquisas e atividades práticas que realizei durante esse período de estágio. Obrigado pelas risadas, momentos de aprendizado e por ter encorajado em momentos em que tive dificuldade.

Agradeço minhas nonnas Izaura e Diva, pelo apoio e acreditarem em mim, e agradecer aos meus avôs Antônio e Eduardo, espero que dê onde vocês estejam, comemorem com muito champanhe e cerveja e tenha dado orgulho a vocês.

Agradeço a minha mãe Patrícia e meu pai Edson, pela confiança e por terem me proporcionado as melhores condições para estudo e conhecimento, paciência e compreensão.

Agradeça a minha companheira Sarah, por ser minha base e meu porto seguro em dias difíceis, risadas e conversas descontraídas, madrugadas jogando e o mais importante, ter cuidado de forma maravilhosa e inspiradora do nosso filho, sem dúvidas esse estágio não seria possível sem sua ajuda e a sua resiliência em me ajudar e saber que estaria cuidando tão bem do nosso filho.

RESUMO GERAL

As abelhas são insetos eussociais que apresentam uma organização altamente estruturada, com divisão de trabalho entre diferentes castas dentro da colônia. Entre elas, destacam-se as operárias, que desempenham funções específicas conforme sua idade. Por volta dos quatro dias de vida, essas abelhas são chamadas de nutrizes, sendo responsáveis pela produção de geleia real por meio das glândulas mandibulares e hipofaringeanas. Essa substância é essencial para a alimentação das larvas jovens e rainha, desempenhando papel crucial no desenvolvimento e manutenção da colônia. O primeiro capítulo contém uma revisão sistemática sobre os efeitos de diferentes classes de agrotóxicos nas glândulas das abelhas. Para a revisão, foram selecionados trabalhos da base de dados da Web of Science, Science Direct, Scopus e Google Scholar, publicados entre 2000 a 2025, revisados por pares e em inglês. Ao final, 10 artigos foram selecionados, sendo cinco trabalhos de inseticida, dois de fungicida, dois de associação e um de acaricida. Os resultados indicam que a exposição a essas substâncias pode causar danos celulares, como a degeneração do retículo endoplasmático rugoso e das mitocôndrias. Esses danos afetam diretamente a síntese da geleia real, prejudicando a nutrição larval, a imunidade social da colmeia e a saúde da rainha, podendo levar ao enfraquecimento ou colapso da colônia. No segundo capítulo, o estudo investigou especificamente os efeitos da cera contaminada com o inseticida clorpirifós nas glândulas de abelhas na fase nutrizes. Para isso, foi utilizada cera contaminada com uma dose considerada ambientalmente relevante do produto. As abelhas foram acompanhadas desde o nascimento, marcadas e, após sete dias, analisadas em laboratório por meio de técnicas histológicas e microscopia. Foram avaliados parâmetros como área e altura celular nas glândulas mandibulares, além do diâmetro e número de ácinos nas glândulas hipofaringeanas. Os resultados foram analisados por teste de t de student para comparação de médias ($p \leq 0,05$). Não foram observadas diferenças estatísticas nas glândulas mandibulares na área total das glândulas em mm^2 ($0,806 \pm 0,16$ e $0,640 \pm 0,08$, controle e tratamento, respectivamente) e altura das células em mm^2 ($0,072 \pm 0,007$ e $0,062 \pm 0,001$, controle e tratamento, respectivamente). Nas glândulas hipofaringeanas, não foram observadas diferenças estatísticas com relação a área dos ácinos em mm^2 ($0,019 \pm 0,002$ e $0,020 \pm 0,004$, controle e

tratamento, respectivamente) e número total de ácidos (115,0±10,7 e 115,3±20,4, controle e tratamento, respectivamente). O estudo sugere possíveis alterações em outros aspectos, porém não perceptíveis apenas por análises de morfologia, assim como avaliar outras doses além da testada no experimento. O trabalho também sugere que após a emergência das abelhas, o alimento recebido dentro da colônia pode ter ajudado na recuperação das glândulas produtoras de geleia real de abelhas na fase nutriz. Portanto, nas condições em que o experimento foi realizado, a cera contaminada com clorpirifós não afeta diretamente as glândulas produtoras de geleia real das abelhas na fase nutriz.

Palavras-chave: abelhas; efeitos dos agrotóxicos; glândulas.

ABSTRACT

Honey bees are eusocial insects that exhibit a highly structured social organization, with division of labor among different castes within the colony. Among them, worker bees perform specific tasks according to their age. At approximately four days of age, workers become nurse bees, being responsible for the production of royal jelly through their mandibular and hypopharyngeal glands. This secretion is essential for feeding young larvae and the queen, playing a crucial role in colony development and maintenance. The first chapter presents a systematic review of the effects of different classes of pesticides on honey bee glands. For this review, studies published between 2000 and 2025 were selected from the Web of Science, ScienceDirect, Scopus, and Google Scholar databases. Only peer-reviewed articles published and in English. A total of ten studies met the inclusion criteria, comprising five studies on insecticides, two on fungicides, two on combined pesticide exposure, and one on an acaricide. The results indicate that exposure to these substances may cause cellular damage, including degeneration of the rough endoplasmic reticulum and mitochondria. Such alterations directly impair royal jelly synthesis, compromising larval nutrition, the colony's social immunity, and queen health, which may ultimately contribute to colony weakening or collapse. The second chapter specifically investigated the effects of wax contaminated with the insecticide chlorpyrifos on the glands of nurse bees. Beeswax was contaminated with a concentration considered environmentally relevant. Worker bees were monitored from emergence, individually marked, and, after seven days, analyzed using histological techniques and microscopy. The evaluated parameters included glandular area and epithelial cell height in the mandibular glands, as well as acini diameter and the total number of acini in the hypopharyngeal glands. Data were analyzed using Student's *t*-test to compare means ($p \leq 0.05$). No statistically significant differences were observed in the mandibular glands regarding total gland area (0.806 ± 0.16 and 0.640 ± 0.08 mm² for the control and treatment groups, respectively) or epithelial cell height (0.072 ± 0.007 and 0.062 ± 0.001 mm for the control and treatment groups, respectively). Likewise, no statistically significant differences were found in the hypopharyngeal glands with respect to acini area (0.019 ± 0.002 and 0.020 ± 0.004 mm² for the control and treatment groups, respectively) or the total number of acini (115.0 ± 10.7 and 115.3 ± 20.4 for the control and treatment groups, respectively). The findings suggest that chlorpyrifos exposure may induce changes in aspects that are not detectable through morphological analyses alone, highlighting the need for future studies investigating additional endpoints and a broader

range of exposure concentrations. The study also suggests that, after worker emergence, the food provided within the colony may have contributed to the recovery of the royal jelly-producing glands in nurse bees. Therefore, under the experimental conditions evaluated, beeswax contaminated with chlorpyrifos did not directly affect the royal jelly-producing glands of nurse bees.

Keywords: bees; effects of pesticides; glands.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2

Figura 1. Estudos de efeitos de agrotóxicos nas glândulas produtoras de geleia real por país.....	27
Figura 2. Agrotóxicos utilizados nos estudos selecionados.....	27

CAPÍTULO 3

Figura 1. Área da glândula mandibular das abelhas na fase nutriz.....	42
Figura 2. Área da glândula hipofaríngea das abelhas na fase nutriz.....	43

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Artigos selecionados para a revisão sistemática, com informações sobre autor, ano, país, agrotóxico utilizado, e os principais resultados.....	25
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Área e altura das células das glândulas mandibulares das abelhas nutrízes, nascidas ou não em cera contaminada com o inseticida clorpirifós.....	42
Tabela 2. Área e número de ácinos das glândulas hipofaríngeas das abelhas nutrízes, nascidas ou não em cera contaminada com o inseticida clorpirifós.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µg	Micrograma
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	16
1. Considerações iniciais	17
REFERÊNCIAS.....	19
CAPÍTULO 2. “Efeito de agrotóxicos nas glândulas produtoras de geleia real de abelhas <i>Apis mellífera</i>”.....	20
RESUMO.....	22
1. Introdução.....	23
2. Objetivos.....	24
3. Materiais e métodos.....	24
4. Resultados.....	25
5. Discussão.....	29
5.1. Fungicida.....	29
5.2. Inseticida.....	29
5.3. Acaricida.....	30
5.4. Associação.....	31
6. Conclusão	31
Referências.....	32
CAPÍTULO 3. “Efeito da cera contaminada com clorpirifós nas glândulas produtoras de geleia real em abelhas <i>Apis mellífera</i> na fase de nutriz”.....	35
RESUMO.....	37
1. Introdução.....	38
2. Materiais e Metodos	40
2.1. Preparo da colônia.....	40
2.2. Preparo da cera contaminada.....	41
2.3. Coleta das abelhas.....	41
2.4. Análises morfológicas.....	42
2.5. Análises estatísticas.....	42
3. Resultados.....	42
3.1. Efeito do clorpirifós nas glândulas mandibulares.....	42
3.2. Efeito do clorpirifós nas glândulas hipofaríngeas.....	43
4. Discussão.....	44
5. Conclusão.....	46
Referências.....	47

CAPITULO 4.....	51
IMPLICAÇÕES.....	52

CAPÍTULO 1

1. Considerações Iniciais

As abelhas são animais de extrema importância para os ecossistemas, fato que pode ser comprovado devido a sua atividade de polinização. Sendo assim, esses insetos representam grande importância para a manutenção e conservação da natureza (Caetano *et al.*, 2024), além de promover benefícios para os humanos, contribuindo para a alimentação, economia e conservação ambiental.

A utilização de agrotóxicos no manejo de pragas e doenças em culturas agrícolas constitui uma das principais ameaças à sobrevivência e à manutenção das populações de abelhas. Além dos efeitos diretos sobre os polinizadores, estes compostos promovem a contaminação do ar, do solo e dos recursos hídricos, comprometendo o equilíbrio da fauna e da flora. No contexto brasileiro, o uso intensivo de agrotóxicos evidencia um cenário de preocupação para a conservação da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos prestados pelos polinizadores, além de representar potenciais riscos à saúde pública.

Devido à sua intensa atividade de forrageamento, as abelhas melíferas encontram-se frequentemente expostas aos agrotóxicos aplicados em culturas agrícolas. Durante os voos de coleta, esses insetos exploram extensas áreas em busca de néctar, pólen, água e resinas, recursos indispensáveis para a nutrição, manutenção e desenvolvimento da colônia, bem como para a constituição de reservas alimentares utilizadas em períodos de menor disponibilidade de recursos florais. (Chatterjee *et al.*, 2019). Desta forma, o envenenamento das abelhas pode ocorrer quando os agrotóxicos são utilizados na agricultura, podendo contaminá-las no trabalho de coleta de alimento, seja pelo contato direto ou pela ingestão de néctar e pólen contaminados (Zhang *et al.*, 2023).

A cera destaca-se entre os produtos apícolas por apresentar baixa taxa de renovação, permitindo que os favos permaneçam na colmeia por longos períodos em condições naturais. No sistema de manejo apícola, esses favos são processados e reutilizados para a obtenção e comercialização da cera, estabelecendo um ciclo contínuo que favorece o acúmulo de resíduos de agrotóxicos oriundos das práticas agrícolas. Em razão de suas características físico-químicas, a cera atua como um reservatório de contaminantes lipofílicos, possibilitando a exposição crônica das abelhas aos compostos presentes na colmeia. (Mullin *et al.*, 2010; Alkassab *et al.*, 2022; Kast e Kilchenmann, 2022), podendo afetar a saúde da colônia.

Em uma colônia, as abelhas operárias realizam diferentes atividades de acordo com sua idade fisiológica, como a fase de nutrizas, responsáveis pela produção da geleia real, alimento

1 indispensável pelo desenvolvimento larval nas fases iniciais, desenvolvimento de uma futura
2 rainha e alimentação desta durante toda sua vida adulta (Crailsheim *et al.*, 1992). A geleia real
3 é um produto da mistura de secreções de glândulas mandibulares e hipofaringeanas, cuja
4 atividade encontra-se entre o quarto e décimo quarto dia de vida da abelha operária (nutriz).
5 Assim, o desenvolvimento inadequado destas glândulas pode comprometer o desenvolvimento
6 populacional da colônia, bem como a taxa de postura da rainha (Zaluski *et al.*, 2017).

7 Portanto, entender os danos causados pelos agrotóxicos nas glândulas produtoras de geleia
8 real é de extrema importância pois se trata de uma fase crítica dentro de uma colônia . Sendo
9 assim, o capítulo 1 deste trabalho teve como objetivo encontrar trabalhos publicados a respeito
10 dos efeitos dos agrotóxicos nas glândulas hipofaringeanas e mandibulares das abelhas na fase
11 nutriz, avaliando danos estruturais e seus efeitos na colônia. O capítulo 2 aborda os efeitos da
12 cera contaminada com o inseticida clorpirifós e seus efeitos nas glândulas produtoras de geleia
13 real nas abelhas da fase nutriz.

REFERÊNCIAS

ALKASSAB, Abdulrahim T. *et al.* Transfer of xenobiotics from contaminated beeswax into different bee matrices under field conditions and the related exposure probability. **Chemosphere**, v. 307, p. 135615, 2022.

CAETANO, Thalita S. G. *et al.* A importância das abelhas sem ferrão na polinização das culturas agrícolas no Brasil. **Revista Delos**, v. 17, n. 61, p. 1–14, 2024.

CHATTERJEE, Anirban *et al.* Honey bees flexibly use two navigational memories when updating dance distance information. **Journal of Experimental Biology**, v. 222, p. 1–11, 2019.

CRAILSHEIM, Karl. O fluxo de geleia dentro de uma colônia de abelhas. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 162, p. 681–689, 1992.

KAST, Christine *et al.* An in vitro model for assessing the toxicity of pesticides in beeswax on honey bee larvae. **Chemosphere**, v. 287, p. 132214, 2022.

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, p. e9754, 2010.

ZALUSKI, Rodrigo; JUSTULIN JR., Luiz. A.; ORSI, Ricardo. de O. Field-relevant doses of the systemic insecticide fipronil and fungicide pyraclostrobin impair mandibular and hypopharyngeal glands in nurse honeybees (*Apis mellifera*). **Scientific Reports**, v. 7, p. 15581, 2017.

ZHANG, Guodong; OLSON, Robert; HOPKINS, Brian. Strategies and techniques to mitigate the negative impacts of pesticide exposure to honey bees. **Environmental Pollution**, v. 318, p. 1–12, 2023.

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/06/2028

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until June 22, 2028

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

CAPITULO 4

IMPLICAÇÕES

Os resultados obtidos neste estudo apresentam dados relevantes para a compreensão dos efeitos do inseticida clorpirifós sobre abelhas *Apis mellifera*, durante a fase nutriz. A exposição ao agrotóxico, durante o desenvolvimento larval em cera contaminada, não resultou em alterações significativas na morfologia das glândulas hipofaríngeas e mandibulares, considerando a área dos ácinos e número total de ácinos por cabeça e altura e área das glândulas mandibulares.

No entanto, a ausência de alterações morfológicas não comprova a falta de efeitos subletais, onde mudanças em nível fisiológico, bioquímico ou funcional podem ocorrer sem apresentar modificações na morfologia apresentada no presente estudo. Os resultados obtidos demonstram a importância de estudos abordando a avaliação dos impactos ambientais sobre polinizadores, especialmente considerando que alterações na atividade glandular podem afetar diretamente a produção de geleia real.

Portanto, considerando os dados obtidos, novos estudos devem explorar possíveis efeitos do clorpirifós sobre a atividade das glândulas produtoras de geleia real, composição da geleia real e desempenho das operárias nutrizes, possibilitando assim melhor compreensão sobre o assunto.