

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/01/2028

At the author's request, the full text of this thesis will not be available online until
Jan. 23, 2028

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

EFEITO DO FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA NO TRANSCRIPTOMA DE ABELHAS
Apis mellifera AFRICANIZADAS NA FASE DE CAMPEIRAS

JAINÉ DA LUZ SCHEFFER

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

BOTUCATU – SP
Janeiro, 2026

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

EFEITO DO FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA NO TRANSCRIPTOMA DE ABELHAS
Apis mellifera AFRICANIZADAS NA FASE DE CAMPEIRAS

JAINÉ DA LUZ SCHEFFER

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

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

BOTUCATU – SP
Janeiro, 2026

S317e

Scheffer, Jaine da Luz

Efeito do fungicida piraclostrobina no transcriptoma de abelhas
Apis mellifera africanizadas na fase de campeiras / Jaine da Luz

Scheffer. -- Botucatu, 2026

86 p. : il., tabs., mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi

1. Abelha-africanizada. 2. Expressão gênica. 3. Produtos químicos
agrícolas. 4. Fungicidas. 5. Polinizadores. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFEITO DO FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA NO TRANSCRIPTOMA DE ABELHAS *Apis mellifera* AFRICANIZADAS NA FASE DE CAMPEIRAS

AUTORA: JAINE DA LUZ SCHEFFER

ORIENTADOR: RICARDO DE OLIVEIRA ORSI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Doutor 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

Doutor em Zootecnia YAN SOUZA LIMA (Participação Virtual)

Zootecnia / Instituto Federal do Sertão Pernambucano

Doutor LEONARDO NAZARIO DE MORAES (Participação Presencial)

Diretoria / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCA

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

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

Prof. Dr. RODRIGO ZALUSKI (Participação Virtual)

Departamento de Zootecnia e Desenvolvimento Rural / Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Botucatu, 23 de janeiro de 2026.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Jaine da Luz Scheffer – nascida em 21 de agosto de 1996, na cidade de Torres/RS, é filha de Jair Maier Scheffer e Alzeni Matos da Luz Scheffer. Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus de Dom Pedrito/RS (2019), mestrado em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita “Filho” (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Campus de Botucatu/SP (2022) e atualmente é doutoranda em Zootecnia pela mesma instituição.

DEDICATÓRIA

À minha filha, cuja existência me inspira a ser melhor a cada dia. Que esse trabalho seja um pequeno reflexo do amor, perseverança dos valores e do exemplo que desejo deixar para ti.

Que tu cresças acreditando que é possível alcançar o que parece distante, com coragem e propósito. Essa conquista também é por ti, e espero que um dia te orgulhes da mãe que tens e dos caminhos que trilhei pensando no teu (e nosso) futuro.

Aos meus pais, que tiveram fé nos meus sonhos, acreditaram em mim e me ensinaram o valor do esforço, do estudo e da honestidade. Sem o apoio incondicional de vocês, esse caminho teria sido muito mais difícil.

Dedico com todo meu amor e gratidão!

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial à minha filha, Ísis, por ser minha maior fonte de força e inspiração. Com tua doçura e presença, me ensinas diariamente a ser mais paciente, amorosa e corajosa. Tua existência é o que dá sentido a cada passo da minha caminhada. Obrigada por ser exatamente do jeitinho que és.

Ao meu noivo, João Vitor, pela paciência nos meus silêncios, pela compreensão nos meus cansaços, e por todo apoio e parceria. Ele que acreditou em mim nos momentos em que eu mesma duvidei. Obrigada por estar presente nas alegrias, nos desafios e por seguir ao meu lado com amor em cada etapa dessa jornada.

Aos meus pais, Jair e Alzeni, por acreditarem nos meus sonhos e me darem o suporte para que eu pudesse alcançá-los. Obrigada por me incentivarem em cada passo para que eu chegasse até aqui. Espero, um dia, conseguir retribuir tudo que fizeram por mim ao longo da vida.

Ao Prof. Dr. Ricardo Orsi, obrigada pela oportunidade de realizar o doutorado, pela paciência e acolhimento constantes, pelos ensinamentos e, sobretudo, pela humanidade e compreensão que sempre demonstrou, tornando essa etapa mais leve e significativa.

Aos membros da equipe NECTAR, incluindo todos os pós-graduandos, funcionários e estagiários, pelas trocas de conhecimento, companheirismo e acolhimento. Foi uma honra fazer parte desse grupo.

Estendo meus agradecimentos à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, aos seus funcionários e ao Departamento de Produção Animal, pela estrutura, recursos e o ambiente para o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2020/10524-0.

À CAPES, pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa, essencial para a continuidade da minha formação acadêmica.

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

A todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa trajetória, o meu mais sincero obrigado.

RESUMO GERAL

As abelhas são organismos que apresentam elevada sensibilidade a desequilíbrios ambientais, o que fundamenta sua utilização como bioindicadoras. Simultaneamente, desempenham papel funcional central na polinização, contribuindo para a manutenção da biodiversidade, a produção de alimentos e a estabilidade econômica. Em razão de sua intensa interação com o ambiente, estão continuamente expostas a diversos contaminantes, como o fungicida piraclostrobina, frequentemente detectado em produtos apícolas e potencialmente prejudicial à saúde das abelhas e, conseqüentemente, à segurança alimentar. Diante desse cenário, a presente tese teve como objetivo investigar os efeitos da piraclostrobina (PYR) em abelhas *Apis mellifera* por meio de abordagens complementares, integrando uma revisão sistemática da literatura e um estudo experimental com foco na análise de expressão gênica. A revisão sistemática foi conduzida conforme as diretrizes PRISMA e a estratégia PICO, utilizando as palavras-chave “*Apis mellifera*” AND “Piraclostrobin” em bases de dados científicos. Foram incluídos 25 artigos que avaliaram os efeitos da piraclostrobina, em sua forma pura ou formulada, considerando diferentes vias de exposição e dosagens. Na etapa experimental, avaliou-se o impacto da PYR pura no transcriptoma de abelhas forrageiras expostas ao fungicida por ingestão a uma dose letal (DL_{50} : 8,85 μ g/abelha) ou subletal ($DL_{50/100}$: 0,0885 μ g/abelha), com análises transcriptômicas realizadas após 1 e 4 horas de exposição. A síntese da literatura revelou que a PYR pode afetar negativamente as abelhas em múltiplos níveis biológicos, do celular e molecular ao comportamental, comprometendo a saúde individual das abelhas e a estabilidade das colônias. No experimento por ingestão, após 1 hora de exposição, foram observadas alterações na expressão de genes associados principalmente a processos de desintoxicação e resposta imune, sugerindo a ativação de mecanismos de defesa em resposta ao estresse químico. Em conjunto, os resultados demonstram que a PYR, mesmo em baixas doses e após curtos períodos de exposição, é capaz de desencadear respostas moleculares detectáveis em abelhas que merecem atenção devido às possíveis conseqüências ecológicas. Essas evidências reforçam a necessidade de incorporar marcadores moleculares nas avaliações de risco ecotoxicológico e de fortalecer políticas públicas que conciliem a proteção dos polinizadores com práticas agrícolas sustentáveis.

Palavras-chave: agrotóxico; apicultura; estrobilurinas; expressão gênica; polinizadores.

ABSTRACT

Bees are organisms that have high sensitivity to environmental imbalances, which underlies their use as bioindicators. At the same time, they play a central functional role in pollination, contributing to the maintenance of biodiversity, food production, and economic stability. Due to their intense interaction with the environment, they are continuously exposed to various contaminants, such as the fungicide pyraclostrobin, which is frequently detected in bee products and is potentially harmful to bee health and, consequently, to food safety. Given this scenario, the present thesis aimed to investigate the effects of pyraclostrobin (PYR) on *Apis mellifera* honey bees through complementary approaches, integrating a systematic literature review and an experimental study focused on gene expression analysis. The systematic review was conducted according to the PRISMA guidelines and the PICO strategy, using the keywords “*Apis mellifera*” AND “Pyraclostrobin” in scientific databases. A total of 25 articles were included, evaluating the effects of pyraclostrobin, in its pure or formulated form, considering different exposure routes and dosages. In the experimental stage, the impact of pure PYR on the transcriptome of forager bees exposed to the fungicide via ingestion was assessed at a lethal dose (LD₅₀: 8.85 µg/bee) and a sublethal dose (LD_{50/100}: 0.0885 µg/bee), with transcriptomic analyses performed after 1 and 4 hours of exposure. The synthesis of the literature revealed that PYR can negatively affect bees at multiple biological levels, from cellular and molecular to behavioral, compromising individual health and colony stability. In the ingestion experiment, after 1 hour of exposure, alterations were observed in the expression of genes mainly associated with detoxification processes and immune response, suggesting the activation of defence mechanisms in response to chemical stress. Taken together, the results demonstrate that PYR, even at low doses and after short exposure periods, is capable of triggering detectable molecular responses in bees that warrant attention due to their potential ecological consequences. The findings reinforce the need to incorporate molecular markers into ecotoxicological risk assessments and to develop public policies that reconcile pollinator protection with sustainable agricultural practices.

Keywords: apiculture; gene expression; pesticides; pollinators; strobilurins.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Fluxograma seguindo as diretrizes do PRISMA (Page et al., 2021), mostrando o número total de publicações identificadas e o número de publicações filtradas em cada etapa do processo de seleção a partir da revisão sistemática. 28
- Figura 2.** Linha do tempo dos artigos publicados que investigaram os efeitos do fungicida piraclostrobina em abelhas *Apis mellifera*. Fonte: Autores 28
- Figura 3.** Porcentagem de artigos publicados de cada país em todo o mundo. A cor cinza no mapa indica que não há estudos relatados naquele país até o momento. Fonte: Autores. 29
- Figura 4.** Características dos artigos analisados, contendo o número de estudos com cenários de exposição, rotas de exposição, tipo de formulação utilizada, estágio de vida avaliado e o tipo de dose. Fonte: Autores 30
- Figura 5.** Distribuição percentual dos diferentes parâmetros avaliados nos 25 artigos selecionados. Fonte: Autores 31

CAPÍTULO III

- Figure 1.** Venn diagram indicating the number of differentially expressed genes (DEGs) between the experimental groups of Africanized *Apis mellifera* bees exposed via ingestion to the fungicide pyraclostrobin after 1 hour in lethal and sublethal dosages compared to the control group. 67
- Figure 2.** Histogram of the number of downregulated and upregulated differentially expressed genes (DEGs) between the experimental groups of Africanized *Apis mellifera* bees exposed to the fungicide pyraclostrobin via ingestion after the period of 1 (A) and 4 hours (B) with the lethal and sublethal doses compared to the control groups.67
- Figure 3.** Gene ontology analysis (GO) of Africanized *Apis mellifera* bees after 1 hour of exposure via ingestion to a lethal and sublethal dose of the fungicide pyraclostrobin, compared to the control. The red color indicates biological processes (BP), the green color indicates cellular componentes (CC), and the blue color indicates molecular functions (MF).68
- Figure 4.** Gene ontology (GO) analysis of the intersection of experimental groups of Africanized *Apis mellifera* bees after 1 hour of exposure via ingestion of lethal and sublethal doses of the fungicide pyraclostrobin, compared to the control. The red color indicates biological process (BP), the green color indicates cellular componentes (CC), and the blue color indicates molecular functions (MF).69
- Figure 5.** Cluster analysis of differentially expressed genes (DEGs) in Africanized *Apis mellifera* bees in common after 1 hour of exposure by ingestion between lethal and sublethal doses of the fungicide pyraclostrobin and control group.71

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO II**

Tabela 1. Visão geral dos artigos selecionados com base em dados experimentais, dispostos em ordem cronológica	32
---	----

CAPÍTULO III

Table 1. Average consumption of honey syrup ($\mu\text{L}/\text{bee}$) by <i>A. mellifera</i> bees according to each treatment after 1 and 4 hours of exposure.	66
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<i>A. mellifera</i>	<i>Apis mellifera</i>
A4	Apolipoforina (<i>Apolipophorin III</i>)
<i>Acsf2</i>	Acyl-CoA membro da família sintetase 2 (<i>Acyl-CoA synthetase family member 2</i>)
AI	Ingrediente ativo (<i>Active ingredient</i>)
ANOVA	Análise de variância (<i>Analysis of variance</i>)
<i>Apd-1</i>	Apidermina 1 (<i>Apidermin-1</i>)
<i>Apid1</i>	Apidaecina (<i>Apidaecin</i>)
ATP	Adenosina trifosfato (<i>Adenosine triphosphate</i>)
BP	Processos biológicos (<i>Biological processes</i>)
BWA	Alinhador Burrows-Wheeler (<i>Burrows-Wheeler aligner</i>)
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (<i>Federal agency for support and evaluation of graduate education</i>)
CC	Componentes celulares (<i>Cellular components</i>)
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CO ₂	Dióxido de carbono
<i>Cyp4g11</i>	Enzima de detoxificação (<i>Detoxifying enzyme</i>)
DAR	Dose ambientalmente relevante
DEGs	Genes diferencialmente expressos (<i>Differentially expressed gene</i>)
DL ₅₀ e LD ₅₀	Dose letal (<i>Lethal dose</i>)
DL _{50/100} e LD _{50/100}	Dose subletal (<i>Sublethal dose</i>)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
USA	Estados Unidos da América (<i>United States of America</i>)
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
FAPESP	Fundação de amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (<i>State of São Paulo research foundation</i>)
FC	Varição de expressão (<i>Fold change</i>)
FDR	Taxa de falsa descoberta (<i>False discovery rate</i>)
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (<i>Faculty of Veterinary</i>

Medicine and Animal Science)

g	Gramas
GO	Ontologia gênica (<i>Gene ontology</i>)
GTF	Arquivo de anotação de genes (<i>Gene transfer format</i>)
IBAMA	Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis
m	Metros
MF	Funções moleculares (<i>Molecular functions</i>)
mm	Milímetros
MP	Matriz peritrófica
<i>Mrjps</i>	Proteínas da geleia real (<i>Royal jelly proteins</i>)
n° e no.	Número
NCBI	Centro nacional de informação em biotecnologia (<i>National center for biotechnology information</i>)
ng	Nanogramas
NIH	Institutos nacionais de saúde (<i>National institutes of health</i>)
<i>Obp17</i>	Proteína de ligação de odor (<i>Odorant binding protein</i>)
ODS	Objetivos de desenvolvimento sustentável (<i>Sustainable development goals</i>)
ONU	Organizações das Nações Unidas (<i>United Nations</i>)
OTUs	Unidades taxonômicas operacionais (<i>Operational taxonomic units</i>)
bp	Pares de base (<i>Base pairs</i>)
PICO	População, intervenção, comparação e desfecho (<i>Population, intervention, comparison, and outcome</i>)
pM	Picomolar
ppb	Partes por bilhão
ppm	Partes por milhão
PRISMA	Diretrizes para revisões sistemáticas (<i>Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses</i>)
ProPO	Profenoloxidase (<i>Prophenoloxidase</i>)
PYR	Piraclostrobina (<i>Pyraclostrobin</i>)
qPCR	Reação quantitativa em cadeia da polimerase (<i>Quantitative polymerase chain reaction</i>)
RNA	Ácido ribonucleico (<i>Ribonucleic acid</i>)
RNA-Seq	Sequenciamento de ácido ribonucleico (<i>RNA sequencing</i>)
ROS	Espécies reativas de oxigênio (<i>Reactive oxygen species</i>)

TMM	Média aparada de valores-M (<i>Trimmed Mean of M-values</i>)
tons	Toneladas
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UV	Ultravioleta (<i>Ultraviolet</i>)
μL	Microlitros
μM	Micromolar
"	Segundos
'	Minutos
%	Por cento
<	Menor
>	Maior
=	Igual
°	Graus
°C	Graus Celsius
\approx	Aproximadamente

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	16
CAPÍTULO II "Revisão sistemática dos impactos do fungicida piraclostrobina em abelhas <i>Apis mellifera</i>"	22
RESUMO	23
1. INTRODUÇÃO	24
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1. <i>Estratégia de busca</i>	26
2.2. <i>Critérios de elegibilidade</i>	26
2.3. <i>Extração e manipulação de dados</i>	27
3. RESULTADOS	27
4. DISCUSSÃO	34
4.1. <i>Morfologia e estrutura tecidual e celular</i>	35
4.2. <i>Processos nutricionais</i>	38
4.3. <i>Atividade comportamental</i>	40
4.4. <i>Vitalidade e desenvolvimento ontogenético</i>	42
4.5. <i>Expressão gênica e funcional</i>	46
4.6. <i>Índices zootécnicos</i>	48
5. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO III "Short-term ecotoxicogenomic responses reveal early molecular mechanisms of pyraclostrobin toxicity in honey bees"	57
ABSTRACT	59
1. INTRODUCTION	60
2. MATERIAL AND METHODS	62
2.1. <i>LD₅₀ determination</i>	62
2.2. <i>Obtaining bees in the forager phase</i>	62
2.3. <i>Exposure of bees to the fungicide Pyraclostrobin</i>	63
2.4. <i>RNA-Seq Library Preparation and Sequencing</i>	64
2.5. <i>RNA-Seq data processing and analysis of gene expression differences</i>	65
2.6. <i>Gene ontology analysis</i>	65
3. RESULTS	66
3.1. <i>Food Consumption</i>	66
3.2. <i>Differentially expressed genes (DEGs) induced by pyraclostrobin by ingestion</i>	66
4. DISCUSSION	72

5. CONCLUSION..... 76

REFERENCES..... 78

IMPLICAÇÕES.....84

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O modelo atual de produção agrícola, fortemente baseado no uso de agrotóxicos, tem gerado crescentes preocupações quanto aos seus impactos em organismos não-alvo (Sharma et al., 2019; Md Meftaul et al., 2020; Prata and Martins da Costa, 2024). As abelhas se destacam nesse contexto não apenas pela sua contribuição na produção de seus produtos apícolas, como o mel, e por suas funções essenciais na manutenção dos ecossistemas que sustentam a segurança alimentar, mas também por sua sensibilidade a contaminantes ambientais (Prata and Martins da Costa, 2024). A capacidade desses insetos de acumular contaminantes em seus corpos e nos produtos da colmeia, embora os torne úteis como bioindicadores ambientais, evidencia também sua vulnerabilidade a poluentes, sinalizando desequilíbrios que podem comprometer tanto a saúde das colônias quanto a integridade dos serviços ecossistêmicos (Papa et al., 2022; Hung and Yiin, 2023; Mair et al., 2023; Prata and Martins da Costa, 2024).

Nesse sentido, torna-se importante compreender os riscos associados à exposição de abelhas a agrotóxicos sistêmicos, como a piraclostrobina, cuja presença recorrente em matrizes apícolas e possibilidade de aplicação durante períodos de floração aumentam as chances de contaminação direta de abelhas forrageiras (Rondeau and Raine, 2022; Kast et al., 2024). Esse fungicida, pertencente ao grupo das estrobilurinas, age inibindo a respiração mitocondrial, especificamente no bloqueio do transporte de elétrons no complexo III por meio da ligação ao sítio Qo do citocromo b, o que compromete a síntese de ATP (Bartlett et al., 2002; Zhang et al., 2020). Embora desenvolvido para o controle de fungos fitopatogênicos, seu mecanismo de ação pode afetar negativamente organismos não-alvo, incluindo as abelhas, uma vez que a respiração celular mitocondrial é um processo fundamental e conservado entre a maioria dos eucariotos (Saccone et al., 2006; Rondeau and Raine, 2022).

Considerando os potenciais efeitos causados pela piraclostrobina, o uso de estratégias analíticas é capaz de revelar alterações sutis, porém biologicamente relevantes, que muitas vezes passam despercebidas em avaliações tradicionais de toxicidade (Snape et al., 2004; Raiol et al., 2014). Uma das formas mais promissoras de acesso a essas alterações é por meio da investigação do transcriptoma, que permite identificar os genes ativados ou reprimidos em resposta a um estímulo (Wang et al., 2009; Passos, 2022). Ao mapear essas mudanças na expressão gênica, é possível compreender não apenas os efeitos imediatos de uma substância, mas também seus desdobramentos em processos fisiológicos e comportamentais que sustentam a sobrevivência das abelhas (Jordan, 2014; Assis et al., 2022). Nesse contexto, a

integração de dados moleculares com estudos de ecotoxicologia amplia significativamente a capacidade de diagnóstico ambiental e de previsão de riscos, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais seguras de manejo agrícola e proteção aos polinizadores (Snape et al., 2004).

Diante do exposto, esta tese foi estruturada em quatro capítulos para contribuir para a compreensão dos riscos associados à piraclostrobina sobre as abelhas. O capítulo 1 apresenta uma contextualização do tema que será abordado, bem como sua importância e justificativa de estudo. Nos capítulos seguintes, são abordadas diferentes perspectivas da problemática: a revisão sistemática (capítulo 2) que sintetiza o estado atual dos conhecimentos sobre os efeitos da piraclostrobina em abelhas *Apis mellifera*. Enquanto no capítulo 3 é apresentado o experimento independente com foco na análise de expressão gênica em abelhas forrageiras expostas por ingestão a doses letais e subletais de PYR. Por fim, o Capítulo 4 discute as principais implicações dos resultados obtidos.

OBJETIVOS GERAIS

Investigar os efeitos do fungicida piraclostrobina (PYR) sobre as abelhas *Apis mellifera*, utilizando abordagens complementares que englobam uma revisão sistemática da literatura científica e a realização de um experimento independente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A revisão sistemática teve como objetivo reunir e analisar criticamente as evidências disponíveis sobre os impactos desse agrotóxico puro ou formulado, considerando diferentes vias e concentrações de exposição;

- O experimento teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição de abelhas *A. mellifera* africanizada, na fase de forrageiras, a dose letal (DL₅₀) e subletal (DL_{50/100}) de PYR, por ingestão de alimento contaminado. As análises focam na detecção de alterações no perfil de expressão de genes, visando elucidar possíveis alterações moleculares desencadeadas pela exposição ao fungicida e contribuir para a compreensão dos riscos associados ao seu uso e sua relação com a saúde das abelhas.

PERIÓDICOS

A presente tese resultou nos capítulos II e III que darão origem a dois artigos científicos, os quais serão ou foram submetidos aos seguintes periódicos:

- “Revisão sistemática dos impactos do fungicida piraclostrobina em abelhas *Apis mellifera*”, que será submetido ao periódico “Current Opinion in Insect Science” com Qualis CAPES A1 e Fator de Impacto 4,8;
- “Short-term ecotoxicogenomic responses reveal early molecular mechanisms of pyraclostrobin toxicity in honey bees”, que está submetido ao periódico “Environmental Toxicology and Pharmacology” com Qualis CAPES A2 e Fator de Impacto 4,2;

REFERÊNCIAS

- Assis, A.F., Oliveira, E.H., Donate, P.B., Giuliatti, S., Nguyen, C., Passos, G.A., 2022. What Is the Transcriptome and How It Is Evaluated?, in: Passos, G.A. (Ed.), *Transcriptomics in Health and Disease*. Springer International Publishing, Cham, pp. 3–50. https://doi.org/10.1007/978-3-030-87821-4_1
- Bartlett, D.W., Clough, J.M., Godwin, J.R., Hall, A.A., Hamer, M., Parr-Dobrzanski, B., 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manag. Sci.* 58, 649–662. <https://doi.org/10.1002/ps.520>
- Hung, C.-C., Yiin, L.-M., 2023. Availability of Using Honeybees as Bioindicators of Pesticide Exposure in the Vicinity of Agricultural Environments in Taiwan. *Toxics* 11, 703. <https://doi.org/10.3390/toxics11080703>
- Jordan, B.R., 2014. Expression Tests in Actual Clinical Practice: How Medically Useful is the Transcriptome?, in: *Transcriptomics in Health and Disease*. Springer International Publishing, Cham, pp. 327–340. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11985-4_17
- Kast, C., Müller, J., Fracheboud, M., 2024. Temporal entry of pesticides through pollen into the bee hive and their fate in beeswax. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 31, 61060–61072. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35224-3>
- Mair, K.S., Irrgeher, J., Haluza, D., 2023. Elucidating the Role of Honey Bees as Biomonitors in Environmental Health Research. *Insects* 14, 874. <https://doi.org/10.3390/insects14110874>
- Md Meftaul, I., Venkateswarlu, K., Dharmarajan, R., Annamalai, P., Megharaj, M., 2020. Pesticides in the urban environment: A potential threat that knocks at the door. *Sci. Total Environ.* 711, 134612. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134612>
- Papa, G., Maier, R., Durazzo, A., Lucarini, M., Karabagias, I.K., Plutino, M., Bianchetto, E., Aromolo, R., Pignatti, G., Ambrogio, A., Pellicchia, M., Negri, I., 2022. The Honey Bee *Apis mellifera*: An Insect at the Interface between Human and Ecosystem Health. *Biology (Basel)*. 11, 233. <https://doi.org/10.3390/biology11020233>
- Passos, G.A. (Ed.), 2022. *Transcriptomics in Health and Disease*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-87821-4>
- Prata, J.C., Martins da Costa, P., 2024. Honeybees and the One Health Approach. *Environments* 11, 161. <https://doi.org/10.3390/environments11080161>
- Raiol, T., Agostinho, D.P., Simi, K.C.R., Maria de Souza Silva, C., Walter, M.E., Silva-Pereira, I., Brígido, M., 2014. Transcriptome Analysis Throughout RNA-seq, in: *Transcriptomics in Health and Disease*. Springer International Publishing, Cham, pp. 49–68. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11985-4_2
- Rondeau, S., Raine, N.E., 2022. Fungicides and bees: a review of exposure and risk. *Environ. Int.* 165, 107311. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107311>
- Saccone, C., Lanave, C., De Grassi, A., 2006. Metazoan OXPHOS gene families: Evolutionary forces at the level of mitochondrial and nuclear genomes. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1757, 1171–1178. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.04.021>

- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G.P.S., Handa, N., Kohli, S.K., Yadav, P., Bali, A.S., Parihar, R.D., Dar, O.I., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P., Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., Thukral, A.K., 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Appl. Sci.* 1, 1446. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>
- Snape, J.R., Maund, S.J., Pickford, D.B., Hutchinson, T.H., 2004. Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquat. Toxicol.* 67, 143–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.11.011>
- Wang, Z., Gerstein, M., Snyder, M., 2009. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.* 10, 57–63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>
- Zhang, C., Zhou, T., Xu, Y., Du, Z., Li, B., Wang, Jinhua, Wang, Jun, Zhu, L., 2020. Ecotoxicology of strobilurin fungicides. *Sci. Total Environ.* 742, 140611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140611>

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/01/2028

At the author's request, the full text of this thesis will not be available online until
Jan. 23, 2028

IMPLICAÇÕES

Na presente tese, podem ser identificadas implicações científicas, ecológicas, agrícolas e regulatórias. Do ponto de vista científico, o estudo avança na compreensão dos efeitos subletais da piraclostrobina em abelhas *Apis mellifera* ao abordar dados experimentais originais e dados provenientes de revisão da literatura. O estudo demonstra que exposições agudas de curta duração são suficientes para modular vias moleculares associadas à desintoxicação e à resposta imune, evidenciando que alterações na expressão gênica podem ocorrer rapidamente, mesmo na ausência de efeitos letais detectáveis, indo além de descrições fenotípicas ou comportamentais tradicionalmente reportadas. Até onde foi possível identificar na literatura analisada, há escassez de investigações que avaliem os efeitos da piraclostrobina em nível transcriptômico em *Apis mellifera*, o que confere caráter inovador à abordagem empregada.

A revisão sistemática demonstrou, com base no conhecimento disponível, que a piraclostrobina exerce efeitos biológicos adversos mensuráveis sobre as abelhas *Apis mellifera*. Apesar da consistência dos resultados apresentados, importantes lacunas foram identificadas na literatura, incluindo a escassez de estudos voltados à via de contato e às castas reprodutivas, bem como a predominância de pesquisas concentradas em formulações comerciais específicas, como o Pristine®. Esse panorama revela a necessidade de diversificar as abordagens experimentais e considerar as diferentes castas e fases das abelhas, assim como formulações e seus adjuvantes, que podem influenciar significativamente a toxicidade. Ao identificar assimetrias no corpo de evidências disponíveis, o estudo fornece uma base analítica para orientar investigações futuras, contribuindo para o avanço metodológico e conceitual da ecotoxicologia de fungicidas em abelhas.

A compreensão de que os efeitos subletais ultrapassam o nível biológico individual permite avaliar possíveis impactos ecológicos em cascata capazes de comprometer o desempenho das abelhas no ambiente. Em termos ecológicos, a ativação de genes relacionados à desintoxicação e à defesa imunológica sugere um esforço fisiológico de adaptação que, mesmo desencadeado por exposições agudas, pode comprometer a homeostase do organismo sob exposições repetidas, como frequentemente ocorre em ambientes agrícolas intensivos. Tais alterações, embora não causem mortalidade imediata, podem reduzir a capacidade das abelhas de desempenhar funções ecológicas essenciais, afetando o recrutamento de forrageadoras, a eficiência na coleta de recursos florais e, a longo prazo, a viabilidade da colônia. A desregulação comportamental e fisiológica pode, assim, impactar

negativamente a polinização — serviço ecossistêmico essencial para a reprodução de inúmeras espécies vegetais e para a produtividade agrícola. Esses efeitos individuais podem se propagar em escala populacional e paisagística, levando à redução da densidade e da atividade das abelhas em determinadas áreas e, conseqüentemente, à diminuição da diversidade de plantas polinizadas, afetando a dinâmica da vegetação local, a estabilidade de ecossistemas e sua capacidade de se manter funcional frente a distúrbios ambientais.

Sob a perspectiva agrícola, esta tese reforça a necessidade de práticas mais sustentáveis e conscientes, que minimizem a exposição de abelhas aos agrotóxicos, sem comprometer o controle fitossanitário; medidas como a aplicação fora do período de floração, o uso direcionado em horários ou estágios da planta de menor risco e o desenvolvimento de formulações menos tóxicas para organismos não alvo são estratégias viáveis. Considerando que muitas culturas de interesse econômico dependem da visitação de abelhas para aumentar a produtividade e a qualidade dos frutos, a perda ou o comprometimento da atividade polinizadora pode gerar impactos agrônômicos relevantes, inclusive com prejuízos econômicos. Os achados reforçam a necessidade de integrar a proteção de polinizadores ao manejo integrado de pragas e doenças (MIP/MID), promovendo a compatibilidade entre agrotóxicos e insetos benéficos.

Nesse sentido, os resultados desta tese apontam para a necessidade de aprimoramento dos protocolos atuais de avaliação de risco, que ainda desconsideram efeitos subletais em nível molecular, bem como a importância de revisão das diretrizes regulatórias relacionadas ao período de aplicação de fungicidas, especialmente durante a floração das culturas, quando as abelhas estão mais ativamente expostas ao ambiente e alimentos contaminados. Embora a piraclostrobina não esteja entre os produtos classificados como altamente tóxicos para abelhas, os dados obtidos, somados às evidências da revisão sistemática, demonstram que mesmo em doses subletais o fungicida é capaz de provocar efeitos nocivos a estes insetos. A ausência de restrições claras para produtos como a piraclostrobina pode resultar em exposições recorrentes e crônicas às abelhas, comprometendo sua fisiologia, comportamento e, por conseqüência, os serviços ecossistêmicos de polinização.

Por fim, esta pesquisa contribui para a consolidação da toxicogenômica como ferramenta sensível, complementar e necessária na avaliação ambiental de agrotóxicos, além de oferecer subsídios técnicos e científicos para o aprimoramento das políticas públicas relacionadas à proteção de abelhas e ao uso sustentável de agrotóxicos. Também fortalece o papel das abelhas como bioindicadoras da qualidade ambiental. Integrar dados moleculares, ecológicos

e agronômicos é essencial para uma avaliação de risco ambiental mais robusta e realista. Somente por meio dessa integração será possível garantir a continuidade dos serviços ecossistêmicos de polinização e, conseqüentemente, a segurança alimentar em escalas local e global em longo prazo.