

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto
completo desta tese/dissertação será
disponibilizado somente a partir de
24/06/2026

At the author's request, the full text of this
thesis/dissertation will not be available online until
Jun. 24, 2026

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

EXPRESSÃO DE GENES DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE ABELHAS *Apis mellifera* EXPOSTAS À AGROTÓXICOS

ILOLAN DO ROSÁRIO CORRÊA MOREIRA

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

BOTUCATU – SP
Junho de 2024

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

EXPRESSÃO DE GENES DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE ABELHAS *Apis mellifera* EXPOSTAS À AGROTÓXICOS

ILORAN DO ROSÁRIO CORRÊA MOREIRA

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

Co-orientador: Prof. Dr. Samir Moura Kadri

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

BOTUCATU – SP
Junho de 2024

M838e Moreira, Iloran do Rosário Corrêa
Expressão de genes do sistema antioxidante de abelhas *Apis mellifera* expostas à agrotóxicos / Iloran do Rosário Corrêa Moreira. -- Botucatu, 2024
69 p. : il., tabs.

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

1. Apicultura. 2. Expressão gênica. 3. Sistema antioxidante. 4. Agrotóxico. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **ILORAN DO ROSÁRIO CORRÊA MOREIRA**, RA nº: ZNP220132, RG nº 52.911.391-0, expedido pela SSP/SP, defendeu, no dia 24/06/2024, a dissertação intitulada **EXPRESSÃO DE GENES DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE ABELHAS *Apis mellifera* EXPOSTAS À AGROTÓXICOS**, junto ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Curso de Mestrado Acadêmico, tendo sido 'APROVADA'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Botucatu, 24 de junho de 2024



Carlos Pazini Junior
Supervisor da Seção Técnica de
Pós-Graduação

BIOGRAFIA DO AUTOR

Iloran do Rosário Corrêa Moreira, nascida em 02 de outubro de 1997 na cidade de Campinas (São Paulo), é filha de Geldir Maria Corrêa e Celso Moreira. Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, campus de Botucatu (São Paulo) (2020), atualmente é mestranda em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu (São Paulo).

DEDICATÓRIA

Dedico a minha mãe querida que me inspira todos os dias a continuar, a minha avó Marlene, que me ensinou a ser forte e gentil e dedico também a pequena Iloran, que um dia sonhou em seguir a carreira acadêmica, olha só onde chegamos! Que esta conquista seja, motivo de orgulho não só para nós como para toda minha família!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e ao universo, e a todos que estiveram envolvidos na minha jornada acadêmica ao longo do meu mestrado em Zootecnia. Cada um de vocês desempenhou um papel fundamental no meu crescimento como pesquisador, e é com profunda admiração que expresso minha sincera gratidão. Agradeço aos meus pais, minha mãe Geldir, por todo amor, cuidado, paciência e incentivo durante o desenvolvimento do meu mestrado e ao meu pai Celso, que independentemente de onde esteja, sei que está muito feliz por esta conquista.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Orsi, pela dedicação, ensinamentos, paciência e orientação constante durante o desenvolvimento do mestrado. Ao Dr. Samir Kadri pela coorientação, e ao MSc. Marcus Alvarez pela colaboração nas análises de bioinformática deste estudo. Agradeço aos integrantes do Grupo NECTAR (Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional), incluindo todos os pós-graduandos, funcionários e estagiários, que contribuíram de forma significativa para o desenvolvimento deste estudo. Em especial, agradeço aos amigos Aline Astolfi, Guilherme Souza, Isabella Lippi, Yan Lima, Jaine Scheffer e Laís Feliciano. Agradeço ao Flavio Augusto pelos bolos de cenoura, brigadeiros e cascões, nas nossas tardes de reclamações e fofocas.

Meus agradecimentos se estendem à FMVZ, seus funcionários e ao Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva (FMVZ – UNESP), em especial ao funcionário do setor de apicultura o Arivaldo Inácio (Dinho), por todos os ensinamentos ao longo do mestrado. Agradeço pelo suporte institucional, pela infraestrutura oferecida e pelo ambiente propício à pesquisa e ao aprendizado. Agradeço a todos os professores com os quais tive o privilégio de aprender no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, bem como aos professores que tive aulas em programas externos à FMVZ - UNESP. Agradeço à CAPES pela bolsa de mestrado concedida. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil, CAPES, - Código de Financiamento 001. E posteriormente a bolsa concedida pela FAPESP- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, processo – 2023/00572-6. Muito obrigado também a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

EXPRESSÃO DE GENES DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE ABELHAS *Apis mellifera* EXPOSTAS À AGROTÓXICOS

RESUMO GERAL

A agricultura moderna depende cada vez mais de agrotóxicos para combater pragas que prejudicam a produção agrícola. Prevê-se um aumento significativo no uso desses produtos, o que representa riscos crescentes para organismos não-alvo, como as abelhas. A presente dissertação foi dividida em dois artigos distintos: o primeiro abrange uma revisão sistemática, enquanto o segundo se concentra na análise da expressão gênica do sistema antioxidante de abelhas *Apis mellifera*. Para aprofundar a compreensão desses efeitos, foi realizada uma revisão sistemática das pesquisas existentes sobre os impactos potenciais dos agrotóxicos no sistema antioxidante de abelhas melíferas. O objetivo desta revisão foi elencar os trabalhos publicados entre os anos de 2020 a 2023, concentrando-se no efeito dos agrotóxicos no sistema antioxidante de abelhas melíferas, com foco nas enzimas *CAT*, *SOD* e *GST*. De todos os estudos avaliados predominantemente nos experimentos foram utilizadas doses letais deixando de lado as doses subletais que podem vir ser tão prejudiciais quanto doses mais elevadas, sendo os experimentos em quase suas totalidades realizados em laboratório, avaliando principalmente a exposição oral aos agrotóxicos. Mostrando a necessidade de executar pesquisas em campo e com diferentes tipos de exposição, para melhor compreensão dos efeitos dos agrotóxicos nas abelhas. Já a análise da expressão gênica, teve o objetivo de avaliar a toxicidade de diferentes de agrotóxicos no perfil de expressão gênica do sistema antioxidante de abelhas na fase de campeiras, por meio de análise de transcriptoma. Para isso, foram utilizadas abelhas com mais de 21 dias previamente marcadas e expostas, por contato ou ingestão, com a dose letal (DL_{50}) e dose subletal ($DL_{50/100}$) dos agrotóxicos, e avaliadas no período de uma e quatro horas de exposição. Dos 38 genes, até o momento descritos, que compõem o sistema antioxidante das abelhas, 18 apresentaram alterações em sua regulação após a exposição aos agrotóxicos utilizados no estudo. As abelhas expostas aos inseticidas (fipronil e imidaclopride) foram as abelhas que mais apresentaram alterações na regulação da expressão gênica, no período de uma e quatro hora de exposição por ingestão, por outro lado a exposição por contato em uma hora não apresentou resultados significativos e em quatro horas apenas dois genes tiveram alteração em seu perfil de expressão. Este fato sugere que os agrotóxicos testados são capazes de promover alterações no sistema antioxidante das abelhas *Apis mellifera*.

Palavras-chave: apicultura; expressão gênica; polinização; sistema antioxidante; transcriptoma.

EXPRESSION OF GENES OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN BEEES *Apis mellifera* EXPOSED TO AGROTOXICS

General summary

Modern agriculture increasingly relies on pesticides to combat pests that damage agricultural production. A significant increase in the use of these products is predicted, posing growing risks to non-target organisms such as bees. This dissertation has been divided into two separate articles: the first covers a systematic review, while the second focuses on gene expression analysis of the antioxidant system in *Apis mellifera* bees. To gain a deeper understanding of these effects, a systematic review of existing research on the potential impacts of pesticides on the antioxidant system of honey bees was carried out. The aim of this review was to list papers published between 2020 and 2023, focusing on the effect of pesticides on the antioxidant system of honey bees, with a focus on the enzymes *CAT*, *SOD* and *GST*. In all the studies evaluated, lethal doses were predominantly used in the experiments, leaving aside sublethal doses which can be just as harmful as higher doses, and almost all the experiments were carried out in the laboratory, evaluating mainly oral exposure to pesticides. This shows the need to carry out research in the field and with different types of exposure, in order to better understand the effects of pesticides on bees. The aim of the gene expression analysis was to evaluate the toxicity of different pesticides on the gene expression profile of the antioxidant system of bees in the brood stage, using transcriptome analysis. To do this, bees over 21 days old were previously marked and exposed, by contact or ingestion, to the lethal dose (LD₅₀) and sublethal dose (LD_{50/100}) of the pesticides, and evaluated within one and four hours of exposure. Of the 38 genes described so far that make up the antioxidant system of bees, 18 showed changes in their regulation after exposure to the pesticides used in the study. The bees exposed to the insecticides (fipronil and imidacloprid) were the ones that showed the most changes in the regulation of gene expression, in the one- and four-hour periods of exposure by ingestion; on the other hand, exposure by contact in one hour did not show significant results and in four hours only two genes showed changes in their expression profile. This suggests that the pesticides tested are capable of altering the antioxidant system of *Apis mellifera* bees.

Keywords: gene expression; pollination; antioxidant system; transcriptome.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2

Figura 1. O número de estudos que atendem aos critérios de inclusão, distribuídos de acordo com ano de publicação	22
Figura 2. Número de estudos, distribuídos por classe de agrotóxicos (herbicidas, inseticidas, fungicidas e/ ou associação). Artigos que examinaram a associações dos efeitos de um ou mais agrotóxicos em um único estudo, podendo incluir mais de um inseticida, herbicida ou fungicida, em um mesmo trabalho.....	24
Figura 3. O número de estudos, distribuídos por grupo químico	25

CAPÍTULO 3

Figura 1. <i>FOXO3</i> estimula diretamente a transcrição do gene <i>SOD2</i> (superóxido dismutase dependente de manganês), codificando na matriz mitocondrial. Já a <i>FOXO4</i> e <i>ATXN3</i> , formam um complexo, que estimula diretamente a expressão da <i>SOD2</i> . Acetilação de <i>FOXO4</i> por <i>EP300</i> (<i>p300</i>) ou <i>CREBBP</i> (<i>CBP</i>) em resposta ao estresse oxidativo não afeta a indução da transcrição do gene <i>SOD2</i> mediada por <i>FOXO4</i> . E a <i>FOXO1</i> regula positivamente a transcrição de <i>SOD2</i>	53
Figura 2. A transcrição do gene <i>CAT</i> é diretamente estimulada pelo <i>FOXO3</i> e <i>FOXO6</i> que é regulando positivamente pela <i>FOXO1</i> embora a regulação direta pela <i>FOXO1</i> não tenha sido demonstrada.....	53

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Polietismo etário das abelhas operárias. Adaptado de GALLO <i>et al.</i> , 2002.....	03
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Artigos selecionados de acordo com os critérios de inclusão.....	19
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Genes do sistema antioxidante e suas abreviações.....	48
--	----

Tabela 2. Alterações na expressão de genes do sistema antioxidante em abelhas na fase de campeiras contaminadas com a dose letal (DL ₅₀) e subletal (DL _{50/100}) dos agrotóxicos (glifosato, imidaclopride, fipronil e piraclostrobina) por ingestão pelo período de 1 hora de exposição.....	51
---	----

Tabela 3. Alterações na expressão de genes do sistema antioxidante em abelhas, na fase de campeiras contaminadas com a dose letal (DL ₅₀) e subletal (DL _{50/100}) dos agrotóxicos (glifosato, imidaclopride, fipronil e piraclostrobina) por ingestão pelo período de 4 horas de exposição.....	52
---	----

Tabela 4: Alterações na expressão de genes do sistema antioxidante em abelhas, na fase de campeiras contaminadas com a dose letal (DL ₅₀) e subletal (DL _{50/100}) dos agrotóxicos (glifosato, imidaclopride, fipronil e piraclostrobina) por contato pelo período de 4 horas de exposição.....	52
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µg	Micrograma
ATXN3	A ataxina-3
CAT	<i>Catalase</i>
CCS	Cooper chaperone for superóxido dismutase
Cu/Zn-SOD	Superóxido dismutase dependente do mineral cobre/zinco
DL ₅₀	Dose letal
DL _{50/100}	Dose subletal
Down	Downregulation
EP300/ CREBBP	A histona acetiltransferase p300 também conhecida como p300 HAT ou proteína associada a E1A p300 também conhecida como EP300 ou p300
Fe-SOD	<i>Superóxido dismutase dependente do mineral ferro</i>
FOXO1	Forkhead box protein O1
FOXO3	Forkhead box protein O3
FOXO4	Forkhead box protein O4
FOXO6	Forkhead box protein O6
GPx	<i>Glutathione peroxidase</i>
Grx1	<i>Glutaredoxin-C4</i>
Grx2	<i>Glutaredoxin-related protein 5, mitochondrial</i>
Grx-like 1	<i>LOC411159</i>
GST	<i>Glutathione S transferase</i>
GstD1	<i>Glutathione S-transferase D1</i>
Gstm1c1	<i>Microsomal glutathione S-transferase 1</i>
Gstm1c2	<i>Microsomal glutathione S-transferase 2</i>
GstO1/ GstO2	<i>Pyrimidodiazepine synthase</i>
GstS1	<i>Glutathione S-transferase S1</i>
GstS2	<i>Glutathione S-transferase S2</i>
GstS3	<i>Glutathione S-transferase S3</i>
GstS4	<i>Glutathione S-transferase S4</i>
GstT1	<i>Glutathione S-transferase theta 3</i>
Gstu1	<i>Glutathione S-transferase 1-1</i>
GstZ1	<i>Probable maleylacetoacetate isomerase 2</i>
Gtpx1	<i>Glutathione peroxidase-like 1</i>
Gtpx2	<i>Probable phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase</i>

H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
Mg/kg	Miligramas/quilo
<i>Mn-SOD</i>	<i>Superóxido dismutase dependente do mineral</i>
mRNA	RNA mensageiro
<i>MsrA</i>	<i>Methionine sulphoxide reductase A</i>
<i>MsrB</i>	<i>Methionine-R-sulphoxide reductase B1</i>
Ni-SOD	Superóxido dismutase dependente de níquel
O ₂ ⁻	Oxigênio
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativa de oxigênio
<i>Rsod</i>	<i>LOC413369</i>
<i>SOD</i>	<i>Superóxido dismutase</i>
<i>SOD1</i>	<i>Superóxido dismutase 1</i>
<i>SOD2</i>	<i>Superóxido dismutase 2</i>
<i>SOD3</i>	<i>Superóxido dismutase 3</i>
<i>Tpx1</i>	<i>Peroxiredoxin 1</i>
<i>Tpx3</i>	<i>Thioredoxin peroxidase 3</i>
<i>Tpx4</i>	<i>Thioredoxin peroxidase 4</i>
<i>Tpx6</i>	<i>Peroxiredoxin-6</i>
<i>Trx/Gtx</i>	<i>Glutaredoxin 3</i>
<i>Trx-1</i>	<i>Thioredoxin mitochondrial</i>
<i>Trx-2</i>	<i>Thioredoxin-2</i>
<i>Trx-like1</i>	<i>Thioredoxin-like protein 1</i>
<i>Trx-like2</i>	<i>Peroxiredoxin-like family protein</i>
<i>Trx-like3</i>	<i>Endoplasmatic reticulum resident protein 44</i>
<i>Trxr-1</i>	<i>Thioredoxin reductase 1</i>
TRXs	Tiorredoxinas
UP	Upregulation

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	2
1. Importância das abelhas <i>Apis mellifera</i>	2
2. Agrotóxicos e abelhas melíferas.....	3
3. Sistema Antioxidante.....	5
4. Objetivos.....	6
REFERÊNCIAS.....	6
CAPÍTULO 2.....	9
O impacto dos agrotóxicos no sistema antioxidante de abelhas <i>Apis mellifera</i> -uma revisão sistemática	10
Resumo.....	11
Abstract	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1. Métodos para pesquisa bibliográfica	17
2.2. Critérios de inclusão e exclusão.....	17
3. RESULTADOS.....	18
3.1. Em que ano e localização geográfica ocorreu as investigações existentes?	22
3.2. Quais subespécies de abelhas melífera foram mais comumente estudadas e como foi a realizada a exposição aos agrotóxicos?.....	22
3.3. Quais agrotóxicos e associações foram mais estudados, e quais foram as doses e fase de vida das abelhas foi mais estudada?.....	23
3.3.1. HERBICIDAS.....	23
3.3.2. INSETICIDAS.....	23

3.3.3. FUNGICIDAS.....	24
4. DISCUSSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	29
CAPÍTULO 3.....	39
Agrotóxicos alteram a expressão de genes do sistema antioxidante de abelhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas na fase de campeiras	40
RESUMO.....	41
Abstract	42
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
2.1 Local do experimento e grupos experimentais	46
2.2. Preparação e sequenciamento da biblioteca RNA-Seq	47
2.3. Processamento dos dados RNA-Seq e análise de diferenças de expressões gênicas	47
2.4. Genes do sistema antioxidante.....	48
2.5. Correlação entre os genes e rotas gênicas.....	50
2.6. Análise Estatística	50
3. RESULTADOS.....	50
4. DISCUSSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	57
CAPÍTULO 4	67
IMPLICAÇÕES.....	68

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Importância das abelhas *Apis mellifera*

A apicultura é responsável pela geração de milhares de empregos de forma direta e indiretamente. Necessita de baixo valor de investimento inicial e de manutenção, além de ter a vantagens de sua adaptabilidade a quase todas as regiões do país, desde que haja oferta de alimento ao longo do ano. Sendo uma atividade vantajosa principalmente para produtores familiares por proporcionar comercialização de diversos produtos apícolas, como mel, própolis, cera, geleia real, pólen e apitoxina (ARRUDA *et al.*, 2011), além de possibilitar comercialização de produtos artesanais como sabonetes, pão de mel, hidratantes, entre outros.

As abelhas *Apis mellifera* são insetos sociais, da tribo Apini, ordem Hymenoptera e família Apidae, vivem em grandes colônias com castas especializadas (RAMOS; CARVALHO, 2007), uma colônia pode chegar até 60 a 80 mil abelhas operárias, de 0 a 400 zangões e uma rainha (BOMFIM *et al.*, 2017). O desenvolvimento dos indivíduos compreende os estágios de ovo (três dias), larva (seis dias) e pupa (varia de acordo com a casta). Em média rainha, zangões e operárias levam 16, 24 e 21 dias para completar seu ciclo respectivamente, do ovo até a emergência do indivíduo completamente formado (PAGE; PENG, 2001).

A função da rainha na colônia é a realização da postura de ovos que darão origem a novos indivíduos, manutenção da coesão e organização da colônia por meio de feromônios (RAMOS; CARVALHO, 2007), podendo viver até cinco anos de idade e se alimentando exclusivamente de geleia real. Os zangões são machos, fruto óvulos não fertilizados, que se desenvolvem por meio de partenogênese arrenótoca, sua principal função na colônia é a fecundar a rainha virgem (princesa), durante o voo nupcial. Os zangões atingem sua maturidade sexual com 12 dias de idade e morrem após o acasalamento (GALO *et al.*, 2002), em média vivem de 80 a 90 dias (ÁLVARES, 2010), podendo ser expulsos da colônia em períodos de escassez de alimento (FREE, 1980).

As operárias realizam todos os trabalhos de manutenção dentro da colônia, incluindo a limpeza, alimentação das crias e da rainha, construção de favos, coleta e processamento de alimentos e a defesa da colônia (Tabela 1). O cumprimento dessas tarefas ocorre de acordo com a maturidade fisiológica das abelhas operárias, sendo que algumas funções estão intrinsicamente relacionadas ao estado funcional de glândulas (CRUZ-LANDIM, 1994).

TABELA 1: Polietismo etário das abelhas operárias. Adaptada de GALLO *et al.*, 2002

Função das abelhas operárias de acordo com a idade fisiológica – Polietismo etário	
Idade em dias	Função
1º ao 3º Faxineiras	Trabalham retirando toda e qualquer sujeira de dentro da colônia.
4º ao 12º Nutrizes	Responsáveis pela alimentação das larvas, produção de geleia real e alimentar a rainha.
13º ao 18º Engenheiras	Produzem cera e constroem favos.
19º ao 20º Guardiães	Permanecem na entrada da colmeia, defendendo o território contra qualquer predador.
21º em diante – Campeiras	Responsáveis pelo serviço externo a colônia, coleta de recurso como resina, água, pólen e néctar.

Durante o forrageamento as campeiras, fazem também o trabalho de polinização, sendo as abelhas *Apis mellifera* consideradas polinizadores essenciais para uma ampla gama de culturas agrícolas e é amplamente reconhecida como a espécie mais predominante em todo o mundo (GARIBALDI *et al.*, 2013). Apesar do extenso conhecimento sobre sua domesticação e distribuição global, a importância de *A. mellifera* como polinizador em habitats naturais ainda carece de compreensão (AEBI *et al.*, 2012). A polinização por insetos contribui para o rendimento de 75% das espécies agrícolas globalmente importantes (KLEIN *et al.*, 2007), incluindo inúmeras espécies de plantas selvagens (OLLERTON *et al.*, 2011). Por outro lado, é nesse momento em que as abelhas acabam tornando -se mais susceptíveis agentes externos como os agrotóxicos.

Agrotóxicos e abelhas melíferas

O crescente aumento da população e da economia mundial levou ao aumento progressivo da geração e utilização de produtos químicos na agricultura (SHARMA *et al.*, 2019). Os agrotóxicos são produtos químicos (naturais ou sintéticos) empregados em diversas práticas agrícolas para controle pragas, ervas daninhas e doenças nas plantas. Podendo ser classificados de acordo com sua finalidade como; herbicidas utilizado em ervas daninhas, inseticidas para pragas agrícolas como a mosca branca, fungicidas, nematicidas para controle de nematoides, etc. (SHARMA *et al.*, 2019; WHO, 2020).

De acordo com a Lei Federal brasileira nº 7.802/89, os agrotóxicos ou pesticidas são definidos como produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento (BRASIL, 1989).

Por causa do constante aumento de pragas agrícolas, que causam grandes prejuízos ao rendimento e qualidade das colheitas, isso vem tornando a agricultura moderna cada vez mais dependente da utilização de agrotóxicos (GOTO *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2020). Estima-se que de até 2050 a utilização de agrotóxicos dobre, aumentando ainda mais os riscos potenciais e os efeitos prejudiciais sobre os organismos não-alvo (ZHAO *et al.*; 2022). Embora o uso racional dos agrotóxicos possa proteger as culturas contra pragas, o uso descontrolado dificulta a polinização e o forrageamento das abelhas e contribui para reduções de suas populações, mesmo quando usados em baixas concentrações (COLIN *et al.*, 2019; SHI *et al.*, 2020).

A relação planta-polinizador representam um dos motores mais importantes da biodiversidade na Terra (OLLERTON, 2017); sem os polinizadores não haveria a reprodução de diversas plantas, comprometendo assim a biodiversidade (OLLERTON *et al.*, 2011). Abelhas melíferas fazem parte do grupo de polinizadores mais importante e o papel desempenhado pelas abelhas como polinizadores em ecossistemas naturais e agro ecossistemas está se tornando cada vez mais evidente e reconhecido (OLLERTON *et al.*, 2011; FÖLDESI *et al.*, 2021). As abelhas são responsáveis pela polinização de diversas culturas agrícolas e plantas silvestres (SILLMAN *et al.*; 2021). Porém, durante esse processo as abelhas acabam ficando susceptíveis diversos fatores que podem acabar afetando sua saúde como a exposição aos agrotóxicos.

A contaminação das abelhas por agrotóxicos pode ser dividida em duas formas distintas, a contaminação aguda e a crônica. A contaminação aguda ocorre quando os recursos coletados pelas abelhas contêm concentrações iguais ou superiores a dose letal (DL_{50}) (JOHNSON, 2015; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2016). A contaminação crônica ocorre quando as abelhas são expostas a doses subletais (inferiores a DL_{50}), e não é observada alta mortalidade e sim diversas alterações comportamentais, bioquímicas, fisiológicas e neurológicas, comprometendo o bem-estar e manutenção das colônias.

A distinção entre contaminação aguda e crônica nas abelhas expõe os efeitos adversos dos agrotóxicos em diferentes níveis. Enquanto a contaminação aguda evidencia os riscos imediatos à vida das abelhas, a contaminação crônica revela impactos mais sutis, porém igualmente preocupantes, que comprometem o funcionamento saudável das colônias. Portanto, compreender e abordar ambas as formas de contaminação se tornam essenciais para proteger a biodiversidade e garantir a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas.

Sistema Antioxidante

Os organismos aeróbicos desenvolveram uma rede complexa de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para evitar danos oxidativos, causado pela respiração celular e fatores externos como, poluentes e agrotóxicos. O estresse oxidativo é um processo citotóxico que ocorre nas células quando os mecanismos antioxidantes são sobrecarregados por espécies reativas de oxigênio (ROS). Este desequilíbrio não só causa danos a biomoléculas importantes (lípidos, proteínas e ácidos nucleicos) nas células, mas também tem impacto nas atividades funcionais tanto em vertebrados como em invertebrados (NIKOLENKO; SALTYSKOVA; GAIFULLINA, 2011). A geração de ROS ocorre principalmente nas mitocôndrias nas quais mais de 90% do oxigênio utilizado pela célula é consumido (PEREZ-CAMPO *et al.*, 1998). O estresse oxidativo também é um modulador significativo das estratégias da história de vida (KRAMER *et al.*, 2021), inclusive nas abelhas. Porém, há evidências limitadas de que esta modulação possa mudar após milhares de anos de seleção natural, uma vez que as abelhas melíferas enfrentaram ambientes contaminados, seja por agrotóxicos ou outros poluentes. A diminuição na produção ou neutralização de ROS é realizada pelos antioxidantes, que atuam também contra seus efeitos deletérios no organismo.

O sistema antioxidante dos insetos é composto por enzimas primárias e secundárias, que atuam direta ou indiretamente nas moléculas de ROS (espécies reativas de oxigênio). A primeira linha de defesa contra o ataque das ROS é fornecida por três tipos diferentes de enzimas antioxidantes primárias que atuam diretamente nas ROS: (1) superóxido dismutase (SODs), que reorganizam o superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio; (2) catalase, que previne a formação de radicais hidroxila livres ao decompor o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água; e (3) peroxidases, que catalisam uma reação análoga na qual o peróxido de hidrogênio é reduzido a água por um redutor que atua como doador de elétrons, normalmente para a tioredoxina reduzida (TRX) ou a glutatona (GSH) (CORONA; ROBINSON, 2006).

Ação dos antioxidantes são de extremo interesse nos insetos sociais, pois podem explicar como os indivíduos que possuem uma alta metabólica ao longo de sua vida prolongada, permanece saudável sem mostrar sinais de senescência, incluindo estresse oxidativo. Neste contexto, em que as abelhas melíferas estão expostas a diversos estressores externos e xenobióticos, a sugestão de que as os agrotóxicos, influenciam no aumento de ROS sob condições de estresse parece ser importante.

Objetivos

Os objetivos deste trabalho foi avaliar, por meio da análise de transcriptoma, o efeito de agrotóxicos (dose letal e subletal) em abelhas *Apis mellifera* africanizadas, na fase de campeiras, por testes de ingestão e contato.

O presente estudo resultou no capítulo II intitulado – “O impacto dos agrotóxicos no sistema antioxidante de abelhas *Apis mellifera* - uma revisão sistemática”, o qual foi submetido ao periódico “Sociobiology”, conforme suas regras de publicação. E no capítulo III intitulado – “Agrotóxicos modulam a expressão de genes do sistema antioxidante de abelhas *Apis mellifera* africanizadas na fase de campeiras” o qual foi submetido ao periódico “Bulletin of Insectology”, conforme suas regras de publicação.

REFERÊNCIAS

AEBI, A.; VAISSIÈRE, B.E.; VAN ENGELSDORP, D.; DELAPLANE, K.S.; ROUBIK, D. W.; NEUMANN, P. Back to the future: *Apis* versus non-*Apis* pollination-a response to Ollerton et al. **Trends in Ecology and Evolution**. v. 27, n.3, p. 142-143, 2012

ÁLVAREZ, F.P.; SERRANO, J.M.F. O sexo no mundo das abelhas. **Vida apícola**, p. 18- 24, 2010.

ARRUDA, J.F. BOTELHO, B.; CARVALHO, T. Diagnóstico da cadeia produtiva da apicultura: um estudo de caso. In: XXXI ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 31., 2011, Belo Horizonte. **Inovação Tecnológica e Propriedade Intelectual: Desafios da Engenharia de Produção na Consolidação do Brasil no Cenário Econômico Mundial**. Belo Horizonte: Enegep, 2011. p. 1-13. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/13123>. Acesso em: 12 out. 2023.

BOMFIM, I.G.A; OLIVEIRA, M.O; FREITAS, B.M. Curso Técnico em Apicultura: Biologia das abelhas. Fundação Universidade Estadual do Ceará - Funece Universidade Estadual do Ceará – UECE MEDIOTEC. 2017.

BRASIL. **Lei 7.802, de 11 de julho de 1989**. Brasília, DF, 1989. Disponível em https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm. Acesso em: 09 mai. 2024.

COLIN, T.; MEIKLE, W.G.; WU, X.; BARRON, A.B. Traces of a neonicotinoid induce precocious foraging and reduce foraging performance in honey bees. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 14, p. 8252-8261, 2019.

CORONA, M.; ROBINSON, G.E. Genes of the antioxidant system of the honey bee: annotation and phylogeny. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n. 5, p. 687-701, 2006.

CRUZ-LANDIM, C. Polimorfismo na ocorrência de glândulas exócrinas nas abelhas (Hymenoptera, Apoidae). **In: Anais do Encontro de Abelhas, 1**, Ribeirão Preto, 118, 1994.

FREE, J.B. A organização social das abelhas (*Apis*). São Paulo: E.P.U, 79 p, 1980.

FÖLDESI, R.; HOWLETT, B.G.; GRASS, I.; BATÁRY, P. Larger pollinators deposit more pollen on stigmas across multiple plant species—a meta-analysis. **Journal of Applied Ecology**, v. 58, n. 4, p. 699-707, 2021.

GALLO, D. Entomologia Agrícola. Piracicaba: Ed. Ceres. 2002.

GARIBALDI, L.A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; WINFREE, R.; AIZEN, M.A.; BOMMARCO, R.; CUNNINGHAM, S. A.; ... KLEIN, A. M. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. **Science**, v. 339, n. 6127, p.1608-1611, 2013

GOTO, K.; HORIKOSHI, R.; NAKAMURA, S.; MITOMI, M.; OYAMA, K.; HIROSE, T.; SUNAZUKA, T.; ŌMURA, S. Synthesis of pyripyropene derivatives and their pest-control efficacy. **Journal of Pesticide Science**, v. 44, n. 4, p. 255-263, 2019.

JOHNSON, R. Honey Bee Toxicology. **Annual Review Of Entomology**, v.60, n.1, p.415-434,7, 2015.

KLEIN, A.M.; VAISSIÈRE, B.E.; CANE, J.H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. 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.

KRAMER; B. H. NEHRING; V.; BUTTSTEDT; A.; HEINZE; J.; KORB; J.; LIBBRECHT; R.; MEUSEMANN, K.; PAXTON, R.J.; SÉGURET, A.; SCHAUD, F.; BERNADOU; A. Oxidative stress and senescence in social insects: a significant but inconsistent link?. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 376, n. 1823, p. 20190732, 2021.

NIKOLENKO, A.G.; SALTYSKOVA, E.S.; GAIFULLINA, L.R. Molecular mechanisms of antioxidant protective processes in honeybee *Apis mellifera*. **Oxidative Stress In Vertebrates And Invertebrates: Molecular Aspects Of Cell Signaling**, p. 279-293, 2011.

PAGE JR, R.E.; PENG, C.Y.S. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. **Experimental Gerontology**, v. 36, n. 4, p. 695-711, 2001.

PEREZ-CAMPO, R.; LOPEZ-TORRES, M.; CADENAS, S.; ROJAS, C.; BARJA, G. The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. **Journal of Comparative Physiology B**, V. 168, p.149-158, 1998.

RAMOS, M.J; CARVALHO, C.N. Estudo Morfológico e Biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, 2007.

SANCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Impacts of Pesticides on Honey Bees. **Beekeeping And Bee Conservation - Advances In Research**, p. 77-97, 2016.

SHARMA, A.; KUMAR, V.; SHAHZAD, B.; TANVEER, M.; SIDHU, G. P. S.; HANDA, N.; KOHLI, S. K.; YADAV, P.; BALI, A.S.; PARIHAL, R.D.; DAR, O.I.; SINGH, K.; JASROTIA, S.; BAKSHI, P.; RAMAKRISHNAN, M.; KUMAR, S.; BHARDWAJ, R.; THUKRAL, A.K. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1-16, 2019.

SHI, J.; YANG, H.; YU, L.; LIAO, C.; LIU, Y.; JIN, M.; YAN, W.; WU, X. B. 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, 2020.

SILLMAN, J.; UUSITALO, V.; TAPANEN, T.; SALONEN, A.; SOUKKA, R.; KAHILUOTO, H. Contribution of honeybees towards the net environmental benefits of food. **Science of The Total Environment**, v. 756, p. 143880, 2021.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals?. **Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

OLLERTON, J. Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. **Annual Review Of Ecology, Evolution, And Systematics**, v. 48, p. 353-376, 2017.

WHO - World Health Organization. **The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2019**. World Health Organization, 2020. Disponível em <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240005662>. Acesso em: 09 mai. 2024.

WU, J.; GE, L.; LIU, F.; SONG, Q.; STANLEY, D. Pesticide-induced planthopper population resurgence in rice cropping systems. **Annual Review of Entomology**, v. 65, p. 409-429, 2020

ZHAO, H.; LI, G.; CUI, X.; WANG, H.; LIU, Z.; YANG, Y.; XU, B. Review on effects of some insecticides on honey bee health. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, p. 105219, 2022.

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de
24/06/2026

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until
Jun. 24, 2026

CAPÍTULO 4

IMPLICAÇÕES

A presente pesquisa revela importantes implicações tanto para a teoria quanto para a prática no campo da apicultura. A utilização de agrotóxicos representa uma ameaça significativa para as abelhas *Apis mellifera*. Esses produtos químicos podem afetar negativamente o equilíbrio redox das células, causando estresse oxidativo ao aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio. Isso pode comprometer as enzimas antioxidantes essenciais, como a *superóxido dismutase (SOD)*, *catalase (CAT)* e *glutathione-S-transferase (GST)*, que desempenham um papel essencial na defesa antioxidante das abelhas.

Os agrotóxicos, podem impactar diretamente a atividade dessas enzimas, levando a disfunções no sistema antioxidante das abelhas e resultando em consequências negativas para sua saúde, incluindo danos ao sistema imunológico, distúrbios no desenvolvimento, problemas reprodutivos, diminuição da população de abelhas além de prejuízos fisiológicos e comportamentais.

A pesquisa destaca a necessidade de revisar e regular o uso de agrotóxicos na agricultura. As evidências sugerem que práticas agrícolas mais sustentáveis e a implementação de políticas públicas que promovam a proteção das abelhas são essenciais. Medidas práticas podem incluir:

- **Desenvolvimento e uso de agrotóxicos menos tóxicos para as abelhas;**
- **Adoção de técnicas de manejo integrado de pragas (MIP) que reduzam a necessidade de agrotóxicos;**
- **Estabelecimento de zonas de proteção onde o uso de agrotóxicos é restrito ou proibido;**
- **Uso correto dos agrotóxicos nos cultivos agrícolas, de acordo com a recomendação da bula;**
- **Desenvolvimento de políticas públicas em prol da preservação das abelhas.**

Essas ações podem ajudar a mitigar os efeitos negativos dos agrotóxicos, protegendo as abelhas melíferas e, por extensão, a segurança alimentar global, dado o papel fundamental das abelhas na polinização.

A pesquisa abre novas questões e áreas para investigação futura, tais como:

- **Exposição das abelhas por via contato aos efeitos de agrotóxicos no sistema imune das abelhas.**

- **Estudos de longo prazo sobre as consequências subletais da exposição crônica aos agrotóxicos.**
- **Investigação das interações entre múltiplos estressores ambientais, como patógenos e agrotóxicos, no sistema imunológico e no sistema antioxidante das abelhas.**
- **Efeito da cera contaminada na sobrevivência de abelhas *Apis mellifera*.**
- **Efeito do aquecimento global + agrotóxicos no desenvolvimento de abelhas melífera.**

Essas direções podem fornecer uma compreensão mais completa dos riscos ambientais e ajudar no desenvolvimento de estratégias de mitigação mais eficazes.

As implicações deste estudo variam conforme o contexto geográfico e agrícola. Em regiões com alta dependência de culturas polinizadas por abelhas, os resultados ressaltam a necessidade de uma gestão rigorosa do uso de agrotóxicos. Além disso, a conscientização pública e a educação dos agricultores sobre práticas agrícolas sustentáveis são essenciais para garantir a saúde das populações de abelhas e a continuidade dos serviços de polinização.

A compreensão dessas implicações é essencial, pois as abelhas desempenham um papel fundamental na polinização de plantas, sendo vitais para a produção de alimentos. Portanto, a utilização responsável de agrotóxicos e a implementação de práticas agrícolas mais sustentáveis e políticas públicas, são essenciais para proteger não apenas as abelhas, mas também a segurança alimentar global.