

## RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 19/09/2026.

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

---

**MISTURA DE AGROTÓXICOS PODE PREJUDICAR A SAÚDE,  
COMPORTAMENTO E REPRODUÇÃO DE ABELHAS SOLITÁRIAS NATIVAS?**

**RAFAELA TADEI**

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)**

---

**MISTURA DE AGROTÓXICOS PODE PREJUDICAR A SAÚDE, COMPORTAMENTO E  
REPRODUÇÃO DE ABELHAS SOLITÁRIAS NATIVAS?**

**RAFAELA TADEI**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências biológicas.  
Orientador: Dr. Osmar Malaspina  
Coorientador: Dra. Elaine Cristina Mathias da Silva Zacarin

**Rio Claro – SP  
2024**

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T121m | <p>Tadei, Rafaela</p> <p>Mistura de agrotóxicos pode prejudicar a saúde, comportamento e reprodução de abelhas solitárias nativas? / Rafaela Tadei. -- Rio Claro, 2024</p> <p>198 p.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro</p> <p>Orientador: Osmar Malaspina</p> <p>Coorientadora: Elaine Mathias da Silva Zacarin</p> <p>1. Inseticida. 2. Fungicida. 3. Centris analis. 4. Osmia bicornis. 5. Semi-campo. I. Título.</p> |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: MISTURA DE AGROTÓXICOS PODE PREJUDICAR A SAÚDE, COMPORTAMENTO E REPRODUÇÃO DE ABELHAS SOLITÁRIAS NATIVAS?

**AUTORA: RAFAELA TADEI**

**ORIENTADOR: OSMAR MALASPINA**

**COORIENTADORA: ELAINE CRISTINA MATHIAS DA SILVA ZACARIN**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências Biológicas, área: Diversidade Biológica e Biologia Ambiental pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. OSMAR MALASPINA (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Unesp - IB Rio Claro

Prof. Dr. JOSÉ EDUARDO SERRÃO (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia / Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. SAMUEL VIEIRA BOFF (Participação Virtual)  
Institute of Evolutionary Ecology and Conservation Genomics / Ulm University

Profa. Dra. ROBERTA CORNELIO FERREIRA NOCELLI (Participação Virtual)  
Centro de Ciências Agrárias / UFSCar - Araras

Rio Claro, 19 de setembro de 2024

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os envolvidos, instituições, familiares, amigos, professores, colaboradores e servidores que fizeram parte de forma direta ou indireta deste trabalho desenvolvido, em especial descrevo abaixo meus sinceros agradecimentos.

À toda equipe do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - campus Rio Claro, à Universidade Federal de São Carlos – campus Sorocaba e à Universidade de Bolonha – Itália que forneceram suporte institucional e de infraestrutura para realização dos estudos.

Ao financiamento da bolsa de doutorado do **processo nº 2019/27863-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, e pela Bolsa de estágio no exterior processo nº 2022/07920-7, **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**.

Ao Laboratório de diversidade vegetal (LADIVE) e Departamento de Biologia da UFSCar pelo suporte com infraestrutura.

Aos servidores da segurança e manutenção da UFSCar – campus Sorocaba por toda ajuda nos problemas com a estufa de semi-campo, simpatia e disposição em ajudar.

Ao meu orientador Prof. Dr. Osmar Malaspina que me acolheu em sua equipe e mostrou total confiança no meu trabalho desenvolvido, me apoiando nos projetos e me dando direções e oportunidades durante todo o doutorado. Obrigada pelas mensagens e ligações para checar se estava tudo bem no estágio do exterior e enquanto desenvolvia os experimentos em Sorocaba.

À minha coorientadora, inspiração e amiga Profa. Dra. Elaine C. Mathias da Silva. Elaine, muito obrigada pela orientação mais que perfeita que me impulsionou a ir muito além do que eu mesma jamais poderia ter imaginado sozinha. Todas as conquistas até aqui tiveram muito da sua visão e orientação. Te agradeço por me incentivar nos projetos que pareciam mais malucos e acreditar no meu potencial, quando nem eu mesma sabia disso. Além da orientação científica, te agradeço por ser tão humana e saber acolher também a minha vida pessoal. Obrigada por compartilhar comigo sua vida, oferecer sua amizade e seus conhecimentos, por me incluir em oportunidades que apareciam durante esses anos e por vibrar por mim. Você é um exemplo bombástico de professora, pesquisadora e orientadora! Eu tive muita sorte de ser orientada por você, obrigada!

Aos colaboradores com atuação direta neste projeto: Prof. Dr. Rogério H. Toppa e Dra. Cláudia Inês da Silva que me ensinaram muito, me questionaram, estiveram comigo colocando a mão na massa nos experimentos e me impulsionaram a ser uma profissional melhor!

Aos professores colaboradores Wesley Angelino de Souza, Cleyton Fernandes Ferrari, Miguel Angel Aires Borrás e técnico Plínio Cesar Martins que me auxiliaram na montagem do sistema de monitoramento.

Ao Adauto do IFazenda que forneceu suporte e colaboração nos pontos de coleta de ninhos de abelhas solitárias em Itu. E à todas as famílias que forneceram um espaço em suas áreas rurais para instalação dos hotéis de abelhas.

Ao meu supervisor do estágio da Itália Prof. Dr. Fábio Sgolastra pelos conhecimentos compartilhados e extensão da parceria, e a todos os amigos e colegas que conheci durante esse estágio, em especial à Diletta, Roberto, Federico e Adele que me acolheram como família, e estavam comigo para todas as situações.

Aos meus amigos e parceiros do NuPECA: Josimere, Caio, Kyl, Pâmela, Rebeca, Cristiane, João que me ajudaram em experimentos, na estufa de semi-campo e nas discussões científicas. Meus agradecimentos especiais à Pâmela que esteve comigo nos primeiros anos após a pandemia, obrigada por estar comigo nos momentos que não havia mais ninguém no laboratório, por topar o crossfit da estufa, pelas conversas, por acreditar em mim e me lembrar de tomar água entre os experimentos. Agradeço imensamente às suas contribuições na minha formação profissional, mas mais ainda na minha vida pessoal, amo você.

A todos os meus amigos que me acompanharam nas loucuras da falta de finais de semana, mas também nos momentos de empolgação por mais um projeto a ser realizado. Em especial a vocês Mariane Motta, Isabele Rebolo, Juliana Villa, Paulo Albano, Camila Ricci que me deram suporte e força na vida pessoal quando a ansiedade batia, agradeço muito por poder compartilhar os momentos da minha vida com vocês. Vocês fizeram esse momento muito mais leve e feliz!

À família Sandes que me auxiliou na busca por caixotes para a estufa de semi-campo, acerolas e ninho de *Centris*. Em especial ao Wesley que topou comigo diversas ciladas, como a montagem dos experimentos, roçagem e passar noites fazendo vários e vários ninhos artificiais. Obrigada pela força nos momentos de sobrecarga mental, companheirismo em todos os momentos e por toda a ajuda durante essa etapa da minha vida.

À minha amiga e inspiração Vanessa Bezerra que mesmo de longe sempre se fez presente em cada etapa do meu trabalho, pelas discussões de projetos, pelas dicas de carreira, pela parceria no trabalho e na vida. Eu não tenho palavras suficientes para descrever como sua

amizade me inspira e me deu forças durante o doutorado, obrigada pelo exemplo de cientista que você é. Sou muito grata por ter você em minha vida e ter compartilhado essa trajetória contigo, eu te amo.

Aos meus pais Roselaine e Maurício, meus irmãos Michele e Vinícius e minha avó Luzia que são minha base, meu refúgio e minha fortaleza. Pai e mãe agradeço a vocês que não só sonharam comigo e me deram toda a base de chegar aonde eu cheguei, mas estiveram nos experimentos, toparam as minhas loucuras, passaram finais de semana trabalhando comigo e nunca duvidaram de mim. Obrigada por sempre estender a mão, o abraço, viver e celebrar comigo as vitórias também. Mi, muito obrigada por essa irmã amiga, que me ouviu nos momentos difíceis, torceu demais por mim e sempre celebrou minhas conquistas como suas. Vi, obrigada pela força nos experimentos e por sempre estar pronto para ajudar quando eu precisei. Eu não chegaria até aqui sem vocês, meu imenso amor e gratidão! Essa conquista eu divido com vocês!

Por fim, e não menos importante, agradeço à Deus e Nossa Senhora por todas as oportunidades, aprendizados e pessoas que cruzaram meu caminho, e por serem minha base espiritual e crença de amor que me motivou e fortaleceu a buscar/criar oportunidades e superar/resolver todas as situações desses quatro anos.



## RESUMO

O uso de agrotóxicos se destaca entre um dos fatores que intensificam o declínio mundial de populações de abelhas. Dentre as espécies de abelhas descritas no mundo, mais de 70% possuem hábitos solitários. Contudo, a regulamentação de agrotóxicos e maior parte dos estudos são realizados em laboratório e tem como foco a abelha social *Apis mellifera*. Sabendo-se que a sensibilidade e rotas de exposição aos agrotóxicos de abelhas solitárias diferem da espécie modelo *A. mellifera*, essas diferenças precisam ser levadas em consideração para conservação de espécies nativas. Contudo, os efeitos dos agrotóxicos em espécies solitárias brasileiras não são conhecidos pela falta de metodologias existentes para manejo das espécies e realização dos testes. Dessa forma, esse trabalho objetivou avaliar os efeitos da exposição aos agrotóxicos em uma espécie de abelha solitária neotropical, *Centris analis*, e na abelha solitária europeia *Osmia bicornis*. Para isso, foi desenvolvido um método de manutenção de adultos de *C. analis* em condições laboratoriais e em condições de semi-campo. Em condições laboratoriais, a caracterização da sensibilidade aos agrotóxicos de machos e fêmeas de *C. analis* foi realizada pela exposição oral ao inseticida de referência dimetoato. Após a padronização da metodologia, adultos de *C. analis* foram expostos oralmente por 48 horas ao inseticida acetamiprido (7 ng/μL) e ao fungicida azoxistrobina (10 ng/μL), isolados e combinados, para avaliação de efeitos letais e subletais por parâmetros histológicos e comportamentais. Em *O. bicornis*, a sensibilidade de machos e fêmeas foi comparada pela exposição oral aguda ao flupiradifurona. Em seguida, avaliou-se o efeito da combinação da exposição oral crônica ao flupiradifurona e infecção ao patógeno *Vairimorpha (Nosema) ceranae* em *O. bicornis*. Nos ensaios com *C. analis* observou-se que machos e fêmeas se adaptaram as metodologias laboratoriais e de semi-campo, sobrevivendo por mais de 30 dias nessas condições. A comparação da dose letal média do dimetoato obtida para *C. analis* com a reportada na literatura para *Apis mellifera*, mostrou que *C. analis* pode ser mais sensível à exposição aos agrotóxicos. Ademais, nos testes de exposição oral ao dimetoato e nos ensaios com acetamiprido foram observadas diferenças de sensibilidade entre machos e fêmeas, sendo que machos de *C. analis* foram mais sensíveis que fêmeas. Mesmo em uma concentração considerada subletal, o inseticida acetamiprido reduziu a sobrevivência, promoveu danos histológicos no intestino e corpo gorduroso e reduziu a mobilidade das abelhas. Em *O. bicornis*, fêmeas foram mais sensíveis ao flupiradifurona que machos. O ensaio de combinação de agrotóxico com patógenos revelou que essa combinação pode apresentar um grande risco às populações de abelhas solitárias devido ao seu efeito letal. Portanto, os experimentos em condições controladas

mostraram a viabilidade do uso de *C. analis* em estudos ecotoxicológicos. Os resultados da exposição aos agrotóxicos evidenciaram que essas substâncias podem prejudicar a saúde, comportamento e reprodução de abelhas solitárias. Assim, futuros estudos devem ser desenvolvidos em regiões neotropicais para entender esses efeitos nas populações naturais e em combinação com outros estressores, como patógenos e mudanças climáticas.

**Palavras-chave:** Inseticida. Fungicida. *Centris analis*. *Osmia bicornis*. Semi-campo.

## ABSTRACT

The use of pesticides is a significant factor in the global decline of bee populations. Among the bee species described worldwide, more than 70% have solitary habits. However, pesticide regulations and most studies focus on the social bee *Apis mellifera* and are conducted in laboratories. Knowing that the sensitivity and exposure routes to pesticides of solitary bees differ from the model species *A. mellifera*, these differences must be considered for the conservation of native species. However, the effects of pesticides on solitary Brazilian species are not well known due to a lack of suitable methodologies for managing these species and conducting tests. Therefore, this work aimed to evaluate the effects of pesticide exposure on the Neotropical solitary bee *Centris analis*, and the European solitary bee *Osmia bicornis*. For this, a method was developed to maintain *C. analis* bees in laboratory and semi-field conditions. Under laboratory conditions, the sensitivity of male and female *C. analis* to pesticides was characterized through oral exposure to the reference insecticide dimethoate. After standardizing the methodology, adult *C. analis* were orally exposed for 48 hours to the insecticide acetamiprid (7 ng/μL) and the fungicide azoxystrobin (10 ng/μL), both individually and combined, to evaluate lethal and sublethal effects using histological and behavioral parameters. In *O. bicornis*, the sensitivity of males and females was compared through acute oral exposure to flupyradifurone. Additionally, the effect of the pesticide-pathogen combination was assessed through chronic oral exposure to flupyradifurone and infection with *Vairimorpha (Nosema) ceranae* on the European species. The tests with *C. analis* showed that males and females adapted to laboratory and semi-field methodologies, surviving for more than 30 days under these conditions. Comparing the median lethal dose (LD50) of dimethoate for *C. analis* with the LD50 reported in the literature for *A. mellifera* indicated that *C. analis* might be more sensitive to pesticide exposure. Moreover, we noticed differences in dimethoate and acetamiprid sensitivity between males and females, with *C. analis* males being more sensitive than females. Even at a concentration considered sublethal, the insecticide acetamiprid reduced survival, caused histological damage to the midgut and fat body, and reduced bee mobility. In *O. bicornis*, females were more sensitive to flupyradifurone than males. The pesticide-pathogen combination assay revealed that this combination could pose a significant risk to solitary bee populations due to its lethal effect. Therefore, experiments under controlled conditions demonstrated the feasibility of using *C. analis* in ecotoxicological studies. The results of pesticide exposure showed that these substances could harm the health, behavior, and reproduction of solitary bees. Future studies should be conducted in neotropical regions to

understand these effects on natural populations and in combination with other stressors, such as pathogens and climate change.

**Keywords:** Insecticide. Fungicide. *Centris analis*. *Osmia bicornis*. Semi-field.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO GERAL .....                                                                                                                                                 | 13 |
| OBJETIVOS .....                                                                                                                                                        | 17 |
| Objetivo geral .....                                                                                                                                                   | 17 |
| Objetivos específicos .....                                                                                                                                            | 17 |
| CAPÍTULO I .....                                                                                                                                                       | 18 |
| Method for maintaining adult solitary bee <i>Centris analis</i> under laboratory conditions .....                                                                      | 18 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                         | 19 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                           | 20 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                                     | 21 |
| MATERIAL AND METHODS .....                                                                                                                                             | 21 |
| RESULTS .....                                                                                                                                                          | 24 |
| DISCUSSION .....                                                                                                                                                       | 26 |
| REFERENCES .....                                                                                                                                                       | 28 |
| SUPPLEMENTARY MATERIAL .....                                                                                                                                           | 31 |
| CAPÍTULO II .....                                                                                                                                                      | 38 |
| Sensitivity of the Neotropical solitary bee <i>Centris analis</i> F. (Hymenoptera, Apidae) to the reference insecticide dimethoate for pesticide risk assessment ..... | 38 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                         | 39 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                                     | 40 |
| METHODS .....                                                                                                                                                          | 41 |
| RESULTS AND DISCUSSION .....                                                                                                                                           | 46 |
| CONCLUSION .....                                                                                                                                                       | 54 |
| REFERENCES .....                                                                                                                                                       | 54 |
| SUPPLEMENTARY MATERIAL .....                                                                                                                                           | 60 |
| CAPÍTULO III .....                                                                                                                                                     | 63 |
| Effect of neonicotinoid and fungicide strobilurin in Neotropical solitary bee <i>Centris analis</i> .....                                                              | 63 |
| GRAPHICAL ABSTRACT .....                                                                                                                                               | 63 |
| HIGHLIGHTS .....                                                                                                                                                       | 63 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                         | 64 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                                     | 65 |
| METHODOLOGY .....                                                                                                                                                      | 66 |
| RESULTS .....                                                                                                                                                          | 71 |

|                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| DISCUSSION .....                                                                                                                                             | 77  |
| CONCLUSION .....                                                                                                                                             | 81  |
| REFERENCES .....                                                                                                                                             | 82  |
| SUPPLEMENTARY MATERIAL .....                                                                                                                                 | 90  |
| CAPÍTULO IV .....                                                                                                                                            | 92  |
| Effects of the insecticide acetamiprid and the fungicide azoxystrobin on locomotion activity and mushroom bodies of solitary bee <i>Centris analis</i> ..... | 92  |
| GRAPHICAL ABSTRACT .....                                                                                                                                     | 92  |
| HIGHLIGHTS .....                                                                                                                                             | 92  |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                               | 93  |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                           | 94  |
| METHODOLOGY .....                                                                                                                                            | 95  |
| RESULTS .....                                                                                                                                                | 100 |
| DISCUSSION .....                                                                                                                                             | 106 |
| REFERENCES .....                                                                                                                                             | 109 |
| SUPPLEMENTARY MATERIAL .....                                                                                                                                 | 116 |
| CAPÍTULO V .....                                                                                                                                             | 118 |
| Survival and behavior of the solitary bee <i>Centris analis</i> under greenhouse conditions ....                                                             | 118 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                               | 119 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                           | 120 |
| METHODOLOGY .....                                                                                                                                            | 121 |
| RESULTS .....                                                                                                                                                | 127 |
| DISCUSSION .....                                                                                                                                             | 133 |
| REFERENCES .....                                                                                                                                             | 137 |
| SUPPLEMENTARY MATERIAL .....                                                                                                                                 | 144 |
| CAPÍTULO VI .....                                                                                                                                            | 146 |
| Acute oral toxicity of the insecticide flupyradifurone in males and females of <i>Osmia bicornis</i> .....                                                   | 146 |
| GRAPHICAL ABSTRACT .....                                                                                                                                     | 146 |
| HIGHLIGHTS .....                                                                                                                                             | 147 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                               | 147 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                                           | 148 |
| METHODOLOGY .....                                                                                                                                            | 149 |
| RESULTS .....                                                                                                                                                | 151 |
| DISCUSSION .....                                                                                                                                             | 157 |
| REFERENCES .....                                                                                                                                             | 160 |

|                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CAPÍTULO VII.....                                                                                                     | 165 |
| Co-exposure to a honeybee pathogen and an insecticide has a synergistic effect on survival<br>in a solitary bee ..... | 165 |
| ABSTRACT.....                                                                                                         | 166 |
| INTRODUCTION .....                                                                                                    | 167 |
| METHODOLOGY .....                                                                                                     | 168 |
| RESULTS .....                                                                                                         | 172 |
| DISCUSSION .....                                                                                                      | 179 |
| REFERENCES .....                                                                                                      | 182 |
| SUPPLEMENTARY MATERIAL.....                                                                                           | 187 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                                                            | 193 |
| REFERÊNCIAS .....                                                                                                     | 194 |

## INTRODUÇÃO GERAL

Populações de espécies de abelhas neotropicais estão sendo ameaçadas por causas bióticas e abióticas, como mudanças climáticas, uso da terra, manejo da paisagem, e uso de agrotóxicos (DICKS et al., 2021; FREITAS et al., 2009). O declínio de abelhas vem sendo reportado mundialmente há mais de duas décadas e suas múltiplas causas foram inicialmente investigadas e descritas para a espécie social *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) (GOULSON et al., 2015; GROSS, 2008; POTTS et al., 2010; VANENGELSDORP et al., 2009). *A. mellifera* é uma espécie generalista e manejada, de alto valor econômico agregado pela produção de mel e outros produtos apícolas e pela polinização (GAUBERT; GIOVENAZZO; DEROME, 2023; WATANABE, 1994). Devido ao amplo conhecimento de sua biologia, facilidade no manejo em campo e laboratório, e distribuição mundial, *A. mellifera* é utilizada como espécie modelo para estudos com abelhas e para compreensão dos efeitos de agrotóxicos sobre esses insetos (OECD, 1998, 2017; SCHEINER et al., 2013), sendo estes uma das causas conhecidas que contribuem para o declínio de abelhas (DICKS et al., 2021).

Contudo, as espécies sociais representam a minoria das espécies de abelhas (menos de 30%) e os estudos apontaram que *A. mellifera* pode não representar de forma efetiva a sensibilidade e exposição de outras abelhas aos agrotóxicos, principalmente em comparação com as abelhas solitárias e espécies nativas não-manejadas (ASSIS et al., 2022a; JÜTTE et al., 2023; SGOLASTRA et al., 2019). Em vista disso, países europeus e da América do Norte iniciaram a padronização de métodos para ensaios ecotoxicológicos com abelhas solitárias da família Megachilidae e dos gêneros *Osmia* e *Megachile*. Dentre essas espécies, ressalta-se a abelha de clima temperado *Osmia bicornis* Linnaeus, 1758, uma espécie manejada para fins de polinização agrícola, univoltina, presente na Europa, África do Norte e parte da Ásia, nidificante de cavidades pré-existent e de fácil manejo para ensaios laboratoriais (AZPIAZU et al., 2023; SGOLASTRA et al., 2019). Devido à essas características, *O. bicornis* foi recomendada como uma espécie de abelha solitária para realização de testes ecotoxicológicos na avaliação de risco ecológico de agrotóxicos em países da União Europeia (EFSA, 2013).

No Brasil, onde *A. mellifera* é uma espécie exótica, nenhuma espécie solitária possui uma metodologia de manutenção em laboratório padronizada para ser inserida na avaliação de risco aos agrotóxicos, e as recomendações/metodologias de inclusão de espécies não-*Apis* em ensaios ecotoxicológicos são limitadas as abelhas sociais sem-ferrão (LOURENCETTI et al., 2023; ROSA-FONTANA et al., 2020; VIANA-SILVA et al., 2018). Regiões Neotropicais



abrigam uma grande diversidade de abelhas chegando à 5 mil espécies descritas, embora estima-se que mais de 1/3 dessa diversidade ainda não seja conhecida (FREITAS et al., 2009). Em ecossistemas brasileiros, espécies da tribo Centridini se destacam em relação a riqueza de espécies e números de famílias de plantas que interagem nas regiões de Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga do Brasil (PACHECO FILHO et al., 2015; SIGRIST; SAZIMA, 2004). Essa tribo é formada majoritariamente por abelhas coletoras de óleo (ALVES-DOS-SANTOS; MACHADO; GAGLIANONE, 2007), como por exemplo a abelha solitária *Centris* (*Heterocentris*)  *analis* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Apidae).

*Centris analis* é uma espécie multivoltina que ocorre do México ao Brasil e possui hábito generalista com preferência ao pólen de Malpighiaceae, sendo nidificante em cavidades de madeira pré-existentes (DÓREA et al., 2010; JESUS; GAROFALO, 2000; RABELO et al., 2012; ROUBIK; VILLANUEVA-GUTIÉRREZ, 2009; SILVA et al., 2017). A espécie possui uma alta taxa de ocupação em ninhos armadilhas ou ninho artificiais (BOFF; FRIEDEL, 2021), que são estruturas de madeira ou vermiculita com cavidades (MARTINS; FERREIRA; CARNEIRO, 2012), facilitando o manejo dessa espécie para estudos ou para implementação em áreas agrícolas potencializando a polinização de culturas, como evidenciado por OLIVEIRA e SCHLINDWEIN (2009) na produção de acerola (*M. emerginata*). Devido à essas características, *C. analis* foi selecionada nesse trabalho como espécie solitária do Neotrópico para comparar com estudos de exposição aos agrotóxicos realizados em *A. mellifera* e *O. bicornis*.

Apesar da recomendação de inclusão de abelhas solitárias na regulamentação de agrotóxicos, *A. mellifera* ainda é amplamente usada como espécie modelo para representar toda a diversidade de abelhas no processo regulatório para liberação de agrotóxicos e pouca informação está disponível em relação a diferença de sensibilidade entre abelhas sociais e solitárias (ARENA; SGOLASTRA, 2014; UHL et al., 2019).

Além dessa deficiência em considerar apenas uma espécie de abelha, a atual regulamentação ambiental para registro e liberação de agrotóxicos no Brasil e internacionalmente se baseia principalmente em testes de letalidade de um único princípio ativo, não considerando a complexidade do ambiente onde as abelhas vivem, misturas de agrotóxicos, interações com patógenos, parasitas, déficit nutricional e efeitos subletais (FISHER, 2021; FISHER et al., 2023b; MORE et al., 2021). A exposição de abelhas à misturas de agrotóxicos pode ocorrer cotidianamente pela alimentação de pólen e néctar que contém múltiplos resíduos de agrotóxicos (SILVA et al., 2019; ZIOGA et al., 2020). A interação entre esses resíduos de inseticidas com fungicidas podem potencializar os efeitos dos agrotóxicos

isolados por meio de sinergismo, inibir a toxicidade de uma substância resultando numa interação antagônica, ou agir de forma aditiva no organismo, como reportado na maioria dos estudos testando misturas de agrotóxicos em abelhas (BELDEN, 2022; FISHER et al., 2023a).

Apesar da letalidade ser um importante fator na conservação de espécies, efeitos subletais de médio e longo prazo podem comprometer os serviços ecossistêmicos prestados pelos polinizadores causando um desbalanço ecológico (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; DI NOI et al., 2021). Avaliações de biomarcadores histológicos e de alterações comportamentais são duas abordagens que permitem identificar efeitos subletais após uma exposição aos agrotóxicos em escala sub-individual e individual, respectivamente. O intestino médio, corpo gorduroso e cérebro são os órgãos que se destacam na compreensão de efeitos de xenobióticos nos organismos devido às suas funções metabólicas e fisiológicas, e sensibilidade aos agentes estressores (ABDALLA; DOMINGUES, 2015; GRELLA et al., 2019; MALASPINA; SILVA-ZACARIN, 2006).

O intestino médio possui as funções de digestão de alimentos e absorção de nutrientes, tendo contato direto com agrotóxicos ingeridos de forma oral (MALASPINA; SILVA-ZACARIN, 2006). O corpo gorduroso, um órgão multifuncional metabólico e de preenchimento, desempenha atividades relacionadas a desintoxicação, estoque e mobilização de fontes energéticas, e síntese proteica, como por exemplo a vitelogenina que é crucial para longevidade e reprodução das abelhas (ARRESE; SOULAGES, 2010; CRUZ-LANDIM; PAES DE OLIVEIRA, 2003; SKOWRONEK; WÓJCIK; STRACHECKA, 2021). E o cérebro como representante do sistema nervoso do organismo é formado por estruturas de função sensorial, orientação e aprendizagem que podem ser avaliadas para investigar efeitos neurotóxicos de xenobióticos (BECKER et al., 2016; HEISENBERG, 1998). A avaliação histológica pode revelar danos celulares e teciduais, indicando alterações morfofisiológicas que não são necessariamente refletidas nos ensaios de letalidade (EVEN; DEVAUD; BARRON, 2012). Logo, efeitos subletais dos agrotóxicos estão sendo negligenciados na avaliação de risco ambiental vigente. Como observado no único trabalho com abelha solitária nativa do Brasil com exposição aos agrotóxicos, no qual foi reportado danos no corpo gorduroso da abelha solitária Neotropical *Tetrapedia diversipes* Klug, 1810 (Hymenoptera: Apidae) após a exposição por contato ao inseticida imidacloprido e fungicida piraclostrobina que não ocasionou efeito na letalidade (ASSIS et al., 2022b).

Neonicotinóides e fungicidas também já foram associados com alterações comportamentais em *A. mellifera* (TADEI et al., 2019; TEETERS et al., 2012), abelhas nativas sem ferrão (TOMÉ et al., 2012), e em abelhas solitárias (ARTZ; PITTS-SINGER, 2015; BOFF

et al., 2022). Avaliações comportamentais realizadas após exposição de abelhas aos agrotóxicos em condições laboratoriais descrevem sintomas de intoxicação, como tremores (SUCHAIL; GUEZ; BELZUNCES, 2001), danos em funções motoras (BOVI; ZALUSKI; ORSI, 2018), redução da distância percorrida (TADEI et al., 2019), preferência por alimento contendo neonicotinóide (KESSLER et al., 2015), redução da acuidade visual (CHAKRABARTI; SARKAR; BASU, 2019) e redução da capacidade de fototaxia (TOSI; NIEH, 2017).

Em condições de semi-campo e campo, alguns estudos mostraram que os efeitos subletais de agrotóxicos podem comprometer a reprodução da abelha solitária *O. bicornis* (RUNDLÖF et al., 2015) e população de abelhas nativas (WOODCOCK et al., 2016), enquanto outros apresentaram ausência de efeito em nível populacional quando avaliada o efeito de agrotóxicos em colônias de abelhas sociais (IWASA et al., 2004; TASEI; RIPAULT; RIPAULT, 2001). Dependendo do agrotóxico, exposição e organização social das espécies de abelha, os resultados de testes ecotoxicológicos em condições laboratoriais e em condições realísticas podem ser discrepantes (BLACQUIÈRE et al., 2012; FISHER et al., 2023a). Contudo, os estudos em semi-campo e campo com abelhas solitárias de clima temperado mostraram resultados preocupantes em atividades relacionadas com nidificação e reprodução, como o reconhecimento de ninhos (ARTZ; PITTS-SINGER, 2015), redução de coleta de pólen (RONDEAU; RAINE, 2024), redução de números de descendentes e aumento da proporção de machos na razão sexual de *O. bicornis* (SANDROCK et al., 2014), aspectos estes que não são avaliados em testes laboratoriais, mas possuem efeito direto na população das abelhas.

Portanto, diante da representatividade das abelhas solitárias na diversidade de abelhas, da sua importância na polinização de plantas cultiváveis e não cultiváveis, e pela escassez de estudos que investiguem os efeitos de agrotóxicos sobre elas, esse trabalho teve como objetivo padronizar uma metodologia em laboratório e em semi-campo para a abelha solitária Neotropical *Centris analis*, e avaliar os efeitos letais e subletais da mistura de um neonicotinóide e um fungicida em machos e fêmeas dessa espécie. Além disso, foi avaliado o efeito da combinação de dois estressores relacionados ao declínio de abelhas (agrotóxicos e patógeno) na abelha solitária manejada *O. bicornis*, considerada modelo para estudos ecotoxicológicos com abelhas solitárias de clima temperado.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após o desenvolvimento desse trabalho, o qual foi apresentado em capítulos, pode-se confirmar a viabilidade do uso de *Centris analis* como uma espécie solitária Neotropical em ensaios ecotoxicológicos em condições laboratoriais e de semi-campo e sua maior sensibilidade à exposição aos agrotóxicos que a espécie modelo *Apis mellifera*. Além disso, observou-se que machos e fêmeas podem ter diferentes sensibilidades aos agrotóxicos, evidenciando a necessidade de considerar ambos os sexos em experimentos com abelhas solitárias. Para os inseticidas dimetoato e acetamiprido, machos de *C. analis* foram mais sensíveis à exposição oral dos agrotóxicos que fêmeas. Para *O. bicornis*, as fêmeas foram mais sensíveis que machos quando expostos ao flupiradifurona. A exposição de *C. analis* aos agrotóxicos em concentrações residuais, especialmente ao inseticida acetamiprido, resultou em efeitos letais e subletais no comportamento e danos teciduais em diferentes órgãos, o que pode comprometer a saúde e densidade populacional da espécie. Contudo, esses efeitos podem ser reversíveis uma vez que a exposição cesse e a abelha encontre alimento não contaminado disponível para reparação dos danos. A mistura de agrotóxicos (acetamiprido + azoxistrobina) não apresentou sinergismo ou antagonismo nas concentrações testadas, mas reduziu a longevidade de fêmeas, o que pode prejudicar a reprodução de abelhas solitárias. O fungicida azoxistrobina apresentou alterações teciduais sutis nas abelhas, que isolado de outros fatores estressores, não comprometeriam de forma significativa as atividades de nidificação e polinização. Além da mistura de agrotóxicos, a interação da exposição aos agrotóxicos e infecção com patógenos pode promover um grande declínio em populações de abelhas solitárias, como observado no experimento com *O. bicornis*. Portanto, os experimentos em condições controladas mostraram que agrotóxicos de forma isolada e em mistura podem prejudicar a saúde, comportamento e reprodução de abelhas solitárias e futuros estudos devem ser desenvolvidos em regiões neotropicais para entender esses efeitos nas populações naturais. Esse estudo abre portas para novas linhas de pesquisa com abelhas solitárias neotropicais, incluindo a possibilidade de ensaios de semi-campo para investigar padrões ecológicos e influência de fatores bióticos e abióticos na sobrevivência dessas abelhas.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, F. C.; DOMINGUES, C. E. DA C. Hepato-Nephrotoxic System: A Novel Model of Biomarkers for Analysis of the Ecology of Stress in Environmental Biomonitoring. **PLOS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132349, 2015.
- ALVES-DOS-SANTOS, I.; MACHADO, I. C.; GAGLIANONE, M. C. História natural das abelhas coletoras de óleo. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 04, p. 544–557, dez. 2007.
- ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 324–334, 2014.
- ARRESE, E. L.; SOULAGES, J. L. Insect Fat Body: Energy, Metabolism, and Regulation. **Annual Review of Entomology**, v. 55, n. 1, p. 207–225, jan. 2010.
- ARTZ, D. R.; PITTS-SINGER, T. L. Effects of Fungicide and Adjuvant Sprays on Nesting Behavior in Two Managed Solitary Bees, *Osmia lignaria* and *Megachile rotundata*. **PLOS ONE**, v. 10, n. 8, p. e0135688, 14 ago. 2015.
- ASSIS, J. C. et al. Are native bees in Brazil at risk from the exposure to the neonicotinoid imidacloprid? **Environmental Research**, v. 212, p. 113127, set. 2022a.
- ASSIS, J. C. et al. Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). **Environmental Pollution**, v. 304, p. 119140, jul. 2022b.
- AZPIAZU, C. et al. Description and validation of an improved method to feed solitary bees (*Osmia spp.*) known amounts of pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 264, p. 115398, out. 2023.
- BECKER, N. et al. Age-dependent transcriptional and epigenomic responses to light exposure in the honey bee brain. **FEBS Open Bio**, v. 6, n. 7, p. 622–639, 13 jul. 2016.
- BELDEN, J. B. The acute toxicity of pesticide mixtures to honeybees. **Integrated Environmental Assessment and Management**, 30 mar. 2022.
- BLACQUIÈRE, T. et al. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973–992, 18 maio 2012.
- BOFF, S. et al. Low toxicity crop fungicide (fenbuconazole) impacts reproductive male quality signals leading to a reduction of mating success in a wild solitary bee. **Journal of Applied Ecology**, v. 59, n. 6, p. 1596–1607, 24 jun. 2022.
- BOFF, S.; FRIEDEL, A. Dynamics of nest occupation and homing of solitary bees in painted trap nests. **Ecological Entomology**, v. 46, n. 2, p. 496–499, 23 abr. 2021.
- BOVI, T. S.; ZALUSKI, R.; ORSI, R. O. Toxicity and motor changes in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) exposed to fipronil and imidacloprid. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 239–245, mar. 2018.
- CHAKRABARTI, P.; SARKAR, S.; BASU, P. Pesticide induced visual abnormalities in Asian

honey bees (*Apis cerana* L.) in intensive agricultural landscapes. **Chemosphere**, v. 230, p. 51–58, set. 2019.

CRUZ-LANDIM, C.; PAES DE OLIVEIRA, V. T. Morphology and function of insect fat body cells: A review. **Biociências**, v. 11, n. 2, p. 195–205, 2003.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 81–106, jan. 2007.

DI NOI, A. et al. Review on Sublethal Effects of Environmental Contaminants in Honey Bees (*Apis mellifera*), Knowledge Gaps and Future Perspectives. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 4, p. 1863, 14 fev. 2021.

DICKS, L. V. et al. A global-scale expert assessment of drivers and risks associated with pollinator decline. **Nature Ecology & Evolution**, v. 5, n. 10, p. 1453–1461, 16 out. 2021.

DÓREA, M. DA C. et al. Residual pollen in nests of *Centris analis* (Hymenoptera, Apidae, Centridini) in an area of caatinga vegetation from Brazil. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 01, p. 232–237, mar. 2010.

EFSA. Guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus spp.* and solitary bees). **EFSA Journal**, v. 11, n. 7, 1 jul. 2013.

EVEN, N.; DEVAUD, J. M.; BARRON, A. B. General stress responses in the honey bee. **Insects**, v. 3, n. 4, p. 1271–1298, 2012.

FISHER, A. Protect pollinators — reform pesticide regulations. **Nature**, v. 595, n. 7866, p. 172–172, 8 jul. 2021.

FISHER, A. et al. The challenge of balancing fungicide use and pollinator health. **Advances in Insect Physiology**, v. 64, p. 117–190, 2023a.

FISHER, A. et al. Breaking the cycle: Reforming pesticide regulation to protect pollinators. **BioScience**, 23 out. 2023b.

FREITAS, B. M. et al. **Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics** *Apidologie*, maio 2009.

GAUBERT, J.; GIOVENAZZO, P.; DEROME, N. Individual and social defenses in *Apis mellifera*: a playground to fight against synergistic stressor interactions. **Frontiers in Physiology**, v. 14, 7 jul. 2023.

GOULSON, D. et al. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, p. 1255957, 27 mar. 2015.

GRELLA, T. C. et al. Semi-quantitative analysis of morphological changes in bee tissues: A toxicological approach. **Chemosphere**, v. 236, p. 124255, dez. 2019.

GROSS, M. Bee gloom deepens. **Current Biology**, v. 18, n. 23, p. R1073, dez. 2008.

HEISENBERG, M. What do the mushroom bodies do for the insect brain? an introduction. **Learn Mem.**, v. 5, n. 1, p. 1–10, 1998.

IWASA, T. et al. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, v. 23, n. 5, p. 371–378, 1 maio 2004.

JESUS, B. M. V.; GAROFALO, C. A. Nesting behaviour of *Centris* (Heterocentris)  *analis* (Fabricius) in southeastern Brazil (Hymenoptera, Apidae, Centridini). **Apidologie**, v. 31, n. 4, p. 503–515, jul. 2000.

JÜTTE, T. et al. Risk assessment requires several bee species to address species-specific sensitivity to insecticides at field-realistic concentrations. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 22533, 18 dez. 2023.

KESSLER, S. C. et al. Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. **Nature**, v. 521, n. 7550, p. 74–76, 2015.

LOURENCETTI, A. P. S. et al. Surrogate species in pesticide risk assessments: Toxicological data of three stingless bees species. **Environmental Pollution**, v. 318, p. 120842, fev. 2023.

MALASPINA, O.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. DA. Cell Markers for Ecotoxicological Studies in Target Organs of Bees. **Brazilian Journal of Morphological Science**, v. 23, n. 3, p. 303–309, jan. 2006.

MARTINS, C. F.; FERREIRA, R. P.; CARNEIRO, L. T. Influence of the Orientation of Nest Entrance, Shading, and Substrate on Sampling Trap-Nesting Bees and Wasps. **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 2, p. 105–111, 22 fev. 2012.

MORE, S. J. et al. EFSA is working to protect bees and shape the future of environmental risk assessment. **EFSA Journal**, v. 19, n. 1, jan. 2021.

OECD. Test No 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, n. n° 213, p. 1–9, 1998.

OECD. Test No. 245: Honey Bee (*Apis mellifera* L.), Chronic Oral Toxicity Test (10-Day Feeding). **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, v. 245, n. 2, 2017.

OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C. Searching for a Manageable Pollinator for Acerola Orchards: The Solitary Oil-Collecting Bee *Centris analis* (Hymenoptera: Apidae: Centridini). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 1, p. 265–273, 1 fev. 2009.

PACHECO FILHO, A. J. DE S. et al. Bee-flower association in the Neotropics: implications to bee conservation and plant pollination. **Apidologie**, v. 46, n. 4, p. 530–541, 3 jun. 2015.

POTTS, S. G. et al. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 1, p. 15–22, 2 jan. 2010.

RABELO, L. S. et al. Larval food sources of *Centris* (Heterocentris)  *analis* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Apidae), an oil-collecting bee. **Journal of Natural History**, v. 46, n. 17–18, p. 1129–1140, maio 2012.

RONDEAU, S.; RAINE, N. E. Single and combined exposure to ‘bee safe’ pesticides alter behaviour and offspring production in a ground-nesting solitary bee (*Xenoglossa pruinosa*). **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 291, n. 2019, 27 mar. 2024.

ROSA-FONTANA, A. et al. What is the most suitable native bee species from the Neotropical region to be proposed as model-organism for toxicity tests during the larval phase? **Environmental Pollution**, v. 265, p. 114849, out. 2020.

ROUBIK, D. W.; VILLANUEVA-GUTIÉRREZ, R. Invasive Africanized honey bee impact on native solitary bees: a pollen resource and trap nest analysis. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 98, n. 1, p. 152–160, 25 ago. 2009.

RUNDLÖF, M. et al. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. **Nature**, v. 521, n. 7550, p. 77–80, 7 maio 2015.

SANDROCK, C. et al. Sublethal neonicotinoid insecticide exposure reduces solitary bee reproductive success. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 16, n. 2, p. 119–128, maio 2014.

SCHEINER, R. et al. Standard methods for behavioural studies of *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, 2013.

SGOLASTRA, F. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Solitary Bees. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 1, p. 22–35, 2019.

SIGRIST, M. R.; SAZIMA, M. Pollination and Reproductive Biology of Twelve Species of Neotropical Malpighiaceae: Stigma Morphology and its Implications for the Breeding System. **Annals of Botany**, v. 94, n. 1, p. 33–41, 20 maio 2004.

SILVA, C. I. et al. Is the maximum reproductive rate of *Centris analis* (Hymenoptera, Apidae, Centridini) associated with floral resource availability? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 3, p. 389–402, 1 jun. 2017.

SILVA, V. et al. Pesticide residues in European agricultural soils – A hidden reality unfolded. **Science of The Total Environment**, v. 653, p. 1532–1545, fev. 2019.

SKOWRONEK, P.; WÓJCIK, Ł.; STRACHECKA, A. Fat Body—Multifunctional Insect Tissue. **Insects**, v. 12, n. 6, p. 547, 11 jun. 2021.

SUCHAIL, S.; GUEZ, D.; BELZUNCES, L. P. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 20, n. 11, p. 2482–6, nov. 2001.

TADEI, R. et al. Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 3277, 1 dez. 2019.

TASEI, J. N.; RIPAULT, G.; RIVAULT, E. Hazards of imidacloprid seed coating to *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) when applied to sunflower. **Journal of economic entomology**, v. 94, n. 3, p. 623–7, jun. 2001.

TEETERS, B. S. et al. Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1349–1354, 1 jun. 2012.

TOMÉ, H. V. V. et al. Imidacloprid-Induced Impairment of Mushroom Bodies and Behavior of the Native Stingless Bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p.



e38406, 4 jun. 2012.

TOSI, S.; NIEH, J. C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, alters honey bee activity, motor functions, and movement to light. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 15132, 9 nov. 2017.

UHL, P. et al. Is *Osmia bicornis* an adequate regulatory surrogate? Comparing its acute contact sensitivity to *Apis mellifera*. **PLOS ONE**, v. 14, n. 8, p. e0201081, 8 ago. 2019.

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

VIANA-SILVA, F. et al. Selection matrix for Brazilian bee species to risk assessment of pesticides. **Hazards Of Pesticides To Bees**, p. 56–61, 2018.

WATANABE, M. E. Pollination Worries Rise As Honey Bees Decline. **Science**, v. 265, n. 5176, p. 1170–1170, 26 ago. 1994.

WOODCOCK, B. A. et al. Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 1–8, ago. 2016.

ZIOGA, E. et al. Plant protection product residues in plant pollen and nectar: A review of current knowledge. **Environmental Research**, v. 189, p. 109873, 1 out. 2020.