



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro



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

**Coexposição de abelha nativa e exótica ao imidacloprido e
glifosato: uma avaliação do sistema imune**

TATIANE CAROLINE GRELLA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do
Campus de Rio Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos para obtenção
do título de doutora em Ciências Biológicas
(Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Rio Claro - SP

2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro



TATIANE CAROLINE GRELLA

Coexposição de abelha nativa e exótica ao imidacloprido e glifosato: uma avaliação do sistema imune

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli

Co-orientadora: Dr^a. Hellen Maria Soares Lima

Co-orientador: Dr. José Bruno Malaquias

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Rio Claro – SP

2022

G825c

Grella, Tatiane Caroline

Coexposição de abelha nativa e exótica ao imidacloprido e
glifosato: uma avaliação do sistema imune /

Tatiane Caroline Grella. -- Rio Claro, 2022

152 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Roberta Cornélio Ferreira Nocelli

Coorientadora: Hellen Maria Soares Lima, José Bruno Malaquias

1. Biologia Celular. 2. Biologia Molecular. 3. Stingless bees. 4.
Melipona. 5. Ecotoxicologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto
de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: **Coexposição de abelha nativa e exótica ao imidacloprido e glifosato: uma avaliação do sistema imune**

AUTORA: TATIANE CAROLINE GRELLA

ORIENTADORA: ROBERTA CORNELIO FERREIRA NOCELLI

COORDINADORA: HELLEN MARIA SOARES LIMA

COORDINADOR: JOSÉ BRUNO MALAQUIAS

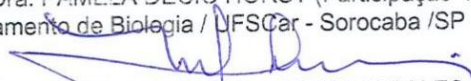
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ROBERTA CORNELIO FERREIRA NOCELLI (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação / UFSCar - ARARAS / SP



Profa. Dra. PÂMELA DECIO HORST (Participação Presencial)
Departamento de Biologia / UFSCar - Sorocaba / SP



Profa. Dra. MARIA APARECIDA MARIN MORALES (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

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

Rio Claro, 12 de agosto de 2022

A minha família.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processos: 2017/21097-3; 2019/20109-3) pelo suporte financeiro à pesquisa realizada.

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

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Roberta Nocelli, por todo aprendizado, por todo tempo dedicado à minha formação, pelas portas que me abriu, pelas discussões, por todo apoio, pelo incentivo, pela paciência diante das minhas dúvidas e principalmente pela amizade construída. Ao Dr. Osmar Malaspina, por todo apoio e atenção.

Agradeço, de modo muito especial, a minha coorientadora, Dra. Hellen Maria Soares Lima por todo o aprendizado em bancada de laboratório, pelas conversas, discussões, ideias, incentivo e auxílio. Ao meu coorientador Dr. José Bruno Malaquias, que me auxiliou, sempre de prontidão, com dúvidas estatísticas e correções.

Agradeço muito a Adna Dorigo, uma amiga que esteve sempre ao meu lado durante todo o período de mestrado e doutorado, com uma parceria incrível em congressos, experimentos, escritas, eventos, tudo o que esse período nos trouxe e principalmente pela nossa amizade.

Aos amigos de laboratório, que sempre contribuíram para o meu crescimento, Jéssica Araujo, Caio Domigues, Thaisa Roat, Aline Catae, Patrícia Azevedo, Letícia Rocha e especialmente a Daiana Tavares por toda ajuda com enzimática, Pâmela Decio pelas longas discussões sobre as técnicas desenvolvidas, Lucas Miotelo, Geovana Maloni e Isabela Camargo, por todos os momentos em que me auxiliaram, Annelise Rosa-Fontana por todas as discussões e Nicole Butolo por toda a ajuda. As minhas alunas de iniciação científica, com quem aprendo a cada dia, Giovana Barsotti e Rafaela Abdalla. A Necis Miranda, pela paciência e auxílio sempre e com tudo.

Agradeço ao Departamento de Biologia da UNESP de Rio Claro, ao Centro de Estudos de Insetos Sociais, ao Laboratório de Ecotoxicologia e Conservação de abelhas (LECA) da UNESP – RC e, ao grupo de estudos Abelhas e os Serviços Ambientais (ASAs) da UFSCar – Araras.

Aos técnicos Sérgio Pascon, Gerson Mello Souza e Priscila Socolowski pela disponibilidade em ajudar e pela gentileza com que atenderam as minhas necessidades.

Aos meus pais, Dirlaine e Valdecy, a quem devo a oportunidade de poder estar concluindo meu doutorado e toda minha trajetória profissional, por todo o incentivo de

sempre. A minha irmã, Ana, por todo companheirismo, paciência, carinho, amor e ajuda sempre. A Jade Bueno, pelo companheirismo, auxílio e toda paciência durante essa reta final.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal, assim como para a realização deste trabalho, o qual só foi possível graças a ajuda de todos.

Agradeço a Deus, o qual sempre me guiou e sem o qual nada seria possível.

*A mente que se abre a uma nova ideia,
jamais voltará ao seu tamanho original*
(Albert Einstein)

Coexposição de abelha nativa e exótica ao imidacloprido e glifosato: uma avaliação do sistema imune

Resumo

No Brasil, 141 culturas agrícolas dependem de polinizadores, como as abelhas, que são responsáveis por um terço desse serviço ecossistêmico. A espécie mais conhecida, dentre as abelhas, é a *Apis mellifera*, uma abelha exótica. No entanto, o Brasil possui uma grande biodiversidade de espécies de abelhas, dentre elas a *Melipona quadrifasciata*, uma abelha nativa e sem ferrão. As populações abelhas vêm sofrendo com diferentes agentes estressores, entre eles os agrotóxicos, os quais de acordo com estudos impactam o comportamento e a morfologia das abelhas. As duas espécies do presente estudo realizam polinização eficientemente, porém quando a busca pelo alimento ocorre, as abelhas entram em contato com diferentes agrotóxicos, tais como o inseticida imidacloprido e o herbicida glifosato. O contato com esses agrotóxicos pode afetar o sistema imune destes insetos, tornando-os mais susceptíveis a doenças. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos das concentrações subletais do imidacloprido e do glifosato, de forma isolada e combinada sobre o sistema imune das abelhas *A. mellifera* e *M. quadrifasciata*. Para a realização das técnicas, as forrageiras foram coletadas e alimentadas com soluções de sacarose contendo 0,0075ng imidacloprido/ μ L e 0,0025ng glifosato/ μ L isolados e combinados, além do grupo controle (que recebeu apenas xarope). Para a realização das técnicas 15 abelhas de cada grupo foram anestesiadas e expostas aos agrotóxicos por 48 horas. A partir disso, foram analisadas a morfologia dos trofócitos e enócitos por meio de microscopia de luz; o número de hemócitos circulantes na hemolinfa; a expressão de proteínas de choque térmico (HSP70 e HSP90), o índice de morte celular através da técnica de Tunel (*Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling*) e a modulação da atividade enzimática das enzimas acetilcolinesterase (AChE), glicose oxidase (GOX), fenol oxidase (POX) e fosfatase alcalina (PAL). Os resultados mostraram que, em relação a morfologia dos enócitos e trofócitos, foi possível observar alterações no número de células e na morfologia das mesmas quando

comparamos os grupos expostos ao controle. Já para a contagem do número de hemócitos, não observamos diferenças significativas entre os grupos para cada uma das espécies, mas houve diferença estatística quando comparamos *A. mellifera* e *M. quadrifasciata*. Complementando os resultados, a HSP70 e HSP90 apresentaram diferenças estatística entre a maioria dos grupos analisados, sendo que para HSP70, a abelha *A. mellifera* apresentou a maior expressão da proteína para o grupo exposto a mistura, enquanto que a abelha *M. quadrifasciata*, apresentou a maior expressão para o grupo exposto ao imidacloprido. Em relação a HSP90, observamos que a expressão de todos os grupos expostos aos agrotóxicos, foi menor quando comparado ao controle para a espécie exótica. Já a análise dos dados para a espécie nativa, demonstrou que os grupos expostos apresentaram maior expressão quando comparados ao controle. Para a técnica de Tunel, não observamos marcação para nenhuma das espécies analisadas. Diante da análise das enzimas, observamos que para a AChE não houve diferença significativa entre grupos e nem entre espécies. Para a enzima GOX, houve diferença significativa apenas entre as espécies para os grupos expostos ao imidacloprido e a mistura. Porém, para as enzimas POX e PAL, observamos uma diferença estatística quando comparamos as espécies analisadas dentro todos os grupos. A partir dos resultados, podemos concluir que, os agrotóxicos isolados e combinados causam alterações no corpo gorduroso, na expressão de proteínas HSPs e na atividade enzimática, que podem comprometer o sistema imune das abelhas forrageiras de ambas as espécies.

Palavras-chave: *Apis mellifera*; *Melipona quadrifasciata*; corpo gorduroso; hemolinfa, HSPs, atividade enzimática

Native and exotic bee co-exposure to imidacloprid and glyphosate: an immune system assessment

Abstract

In Brazil, 141 crops depend on pollinators, including bees, which are responsible for a third of this ecosystem service. The best-known species is *Apis mellifera*, an exotic bee. However, Brazil has a great biodiversity of bee species, including *Melipona quadrifasciata*, a native and stingless bee. Bees have been suffering from different stressors, including pesticides, which, according to studies, impact the behavior and morphology of bees. Both species perform pollination efficiently, but when they search for food, the bees come into contact with different pesticides, such as the insecticide imidacloprid and the herbicide glyphosate. Contact with these pesticides can affect the immune system of these insects, making them more susceptible to diseases. This work was to evaluate the effects of sublethal concentrations of imidacloprid and glyphosate, alone and in combination, on the immune system of *A. mellifera* and *M. quadrifasciata* bees. The forage bees were collected and divided into groups to be fed sucrose solutions containing 0.0075ng imidacloprid/ μ L, 0.0025ng glyphosate/ μ L, and the solution with the combination of the two pesticides at the same concentrations, in addition, to the control group and acetone control group. To perform the techniques, 15 bees from each group were anesthetized 48 hours after the beginning of the exposure. From this, the morphology of trophocytes and enocytes was analyzed using light microscopy; the number of circulating hemocytes in the hemolymph; the expression of heat shock proteins (HSP70 and HSP90), the cell death rate using the Tunel technique (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) and the modulation of the enzymatic activity of the enzymes acetylcholinesterase (AChE), glucose oxidase (GOX), phenol oxidase (POX) and alkaline phosphatase (PAL). The results showed that, about the morphology of the enocytes and trophocytes, it was possible to observe changes in the number of cells and their morphology when comparing the groups exposed to the control. As for counting the number of hemocytes, we did not observe significant differences between the groups for each of the species, but there was a statistical difference when comparing *A. mellifera* and *M. quadrifasciata*. Complementing the results, HSP70 and HSP90 showed statistical differences between most of the groups analyzed. For HSP70, the *A. mellifera* bees showed the highest protein expression for the

group exposed to the mixture, whereas the bee *M. quadrifasciata* showed the highest protein expression for the group exposed to imidacloprid. Regarding HSP90, we observed that the expression of all groups exposed to pesticides was lower when compared to the control for the exotic species, while the analysis of the data for the native species showed that the exposed groups showed greater expression when compared to the control. For the Tunel technique, we did not observe any marking for any of the analyzed species. The analysis of enzymes, showed that for AChE there was no significant difference between groups or between species. For the GOX enzyme, there was a significant difference only between the species for the groups exposed to imidacloprid and the mixture. However, for POX and PAL enzymes, we observed a statistical difference when we compared the species analyzed within all groups. From the results, we can conclude that isolated and combined pesticides cause changes in the fat body, HSPs expression, and enzymatic activity, which can compromise the immune system of forage bees of both species.

Keywords: *Apis mellifera*; *Melipona quadrifasciata*; fat body; hemolymph, HSPs, enzymatic activity.

Sumário

1.Introdução Geral	15
2. Objetivo Geral.....	23
2.1 Objetivos específicos.....	23
3. Material e Método	23
3.1 Material biológico.....	23
3.2 Exposição aos agrotóxicos.....	24
4. Capítulo 1	28
Agrotóxicos isolados e combinados afetam o sistema imune das abelhas?	
4.1 Resumo	29
4.2 Introdução.....	31
4.3 Material e Método	33
4.3.1 Microscopia de luz: Coloração de hematoxilina e eosina	33
4.3.2 Coleta de hemolinfa.....	34
4.3.3 Contagem total de hemócitos	34
4.3.4 Análise estatística	35
4.4. Resultados.....	35
4.5 Discussão	39
4.6 Agradecimentos	43
4.7 Referências	43
5. Capítulo 2	60
Mistura de inseticida e herbicida em concentrações subletais induz ao estresse celular no corpo gorduroso de abelhas	
5.1 Resumo	61
5.2 Introdução.....	63
5.3 Material e método.....	65
5.3.1 Microscopia confocal	65
5.3.2 Detecção de HSP70 e HSP90	65
5.3.3 Detecção de morte celular (Tunel)	66
5.3.4 Análise estatística	66
5.4 Resultados.....	67
5.5 Discussão	71
5.6 Agradecimentos	74
5.7 Referências Bibliográficas.....	75
6. Capítulo 3:	92
Resposta enzimática em abelhas exótica e nativa expostas a agrotóxicos	

6.1 Resumo	93
6.2 Introdução.....	95
6.3 Material e método.....	98
6.3.1 Análise das atividades enzimáticas.....	98
6.3.2 Análise estatística	100
6.4 Resultados.....	100
6.4 Discussão	106
6.6 Agradecimentos	110
6.6 Referências Bibliográficas.....	110
7. Considerações finais	127
8. Referências Bibliográficas	129

1.Introdução Geral

Nos ecossistemas, as relações entre os indivíduos são extremamente importantes e interdependentes. Dentre essas relações, destaca-se a polinização é uma das mais importantes, pois permite a manutenção das angiospermas (KLEIN et al., 2007), por garanti a reprodução cruzada, a variabilidade genética e a qualidade de frutos (BROSI; BRIGGS, 2013). As abelhas são os polinizadores de 90% das angiospermas e 80% dos vegetais de interesse econômico (NOGUEIRA-COUTO, 1998). Na maioria das regiões geográficas, as abelhas são os representantes mais predominantes da entomofilia (KREMEN et al., 2007), sendo que no Brasil às espécies sem ferrão é atribuída a polinização de 40 a 90% das áreas naturais, dependendo do ecossistema considerado (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2008).

Na agricultura também é crescente o interesse pela polinização por abelhas, pois em uma avaliação de 141 culturas, concluiu-se que 85 delas são dependentes de polinizadores, sendo que na ausência de polinizadores, a produção pode sofrer uma redução de 40 a 100% (BPBES, 2019). Também melhora a produção de sementes em 41 culturas, dentre elas a canola, que é terceira oleaginosa mais produzida mundialmente e atualmente é utilizada como fonte de biodiesel (GARIBALDI et al., 2013; GIANNINI et al., 2015a; SANDHU SK, SINGH G, 2018). Segundo Freitas (2015) as abelhas polinizam 73% das plantas utilizadas na alimentação e 42% das espécies mais plantadas no mundo.

De acordo com o Plataforma Intergovernamental sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos (IPBES) acredita-se que existam 81 milhões de colônias *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) no mundo, as quais produzem cerca de 1,6 milhões de toneladas de mel por ano (IPBES, 2016). No Brasil, a produção em 2020 foi de 51.507 toneladas de mel ao ano (MDIC, 2022). Quanto à polinização relacionada a produção agrícola realizada pelas abelhas, o Brasil gera uma receita de 12 a 14 bilhões de dólares ao ano, segundo uma avaliação que considerou os valores das culturas dependentes de polinizadores em 2013 listadas pelo IBGE (GIANNINI et al., 2015; NOVAIS et al., 2016; BPBES, 2019).

Nosso país abriga inúmeras espécies de abelhas, com os mais diferentes hábitos, tamanhos e graus de organização, sendo que a mais conhecida é a espécie introduzida, *A. mellifera*. No Brasil, essa espécie é resultante do cruzamento entre quatro subespécies europeias, sendo elas *A. m. mellifera*; *A. m. ligustica*; *A. m. caucasia* e *A. m. carnolia* com a subespécie africana, *A. mellifera scutellata* dando origem ao híbrido *A. mellifera* africanizada (KERR; BUENO, 1970). É uma espécie com alto grau de organização, ou

seja, possuem rainha, zangão e operária, e as atividades são distribuídas entre essas últimas, de acordo com suas idades. Considerada uma espécie de fácil manejo devido ao alto número de indivíduos por colônia e a fácil adaptabilidade em diferentes ambientes, hoje é encontrada em grande parte das Américas, o que faz com que seja apontada como espécie modelo para diferentes estudos (KLEIN et al., 2007).

Além da espécie exótica o Brasil possui uma grande diversidade de abelhas nativas sem ferrão, que pertencem a tribo Meliponini, a qual está inclusa na Família Apidae. As abelhas sem ferrão povoam as regiões tropicais a mais de 65 milhões de anos (MICHENER, 2007). A tribo Meliponini apresenta uma diversidade de morfologia, construção de ninhos, comportamento, porte grande e número populacional. No Brasil nós temos a ocorrência de cerca de 244 espécies de abelhas sem ferrão, sendo que algumas delas estão correndo risco de extinção devido a vários fatores (KERR, 1996; DE MENEZES PEDRO, 2014), o que é preocupante, uma vez que estimativas indicam que essa tribo é responsável pela polinização de 40 a 90% das árvores nativas brasileiras (KERR et al., 1996; COLETTI-SILVA 2005; RODRIGUES 2005).

Dentre as espécies de abelhas sem ferrão, temos a *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae) que é eussocial, tem potencial para polinização em estufas, é capaz de realizar a polinização por vibração, devido a sua musculatura torácica, que libera o pólen das anteras poricidas (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2008). Além disso, essa espécie produz mel, ninhos perenes e mantém operárias e machos em todas as épocas do ano (CHAM et al., 2019).

No meio ambiente, diversos fatores colocam as abelhas em risco, como desmatamento e fragmentação de habitats (IPBES, 2016). Esses fatores levam a redução da mata nativa, o que faz com que as abelhas busquem seus recursos em áreas agrícolas e, dessa forma, fiquem mais expostas aos agrotóxicos, tanto oralmente quanto por contato (NUNES et al., 2007). Quando as abelhas entram em contato com concentrações subletais de agrotóxicos, embora elas não causem diretamente a morte dos indivíduos, podem ocorrer danos irreversíveis, como por exemplo: alterações no comportamento e no voo, o que compromete a alimentação de toda a colônia, pois com voos mais curtos ou em menor frequência, a oferta de recursos nas colônias é reduzida (DECOURTYE et al., 2004); alterações morfológicas como aumento da eliminação de células e perda da borda em escova que protege o intestino e viabiliza a absorção de nutrientes (CATAE et al., 2014a; COSTA et al., 2015; JACOB et al., 2015); alterações no sistema imune e na modulação de atividade enzimática (ASSIS et al., 2020; ALMASRI, 2021).

Dentre os inseticidas mais utilizados em escala mundial estão os neonicotinoides. O imidacloprido foi o primeiro inseticida desse grupo a aparecer no ranking dos 10 ingredientes ativos mais utilizados no Brasil em 2016, com uma venda de 9.165,9 toneladas (IBAMA, 2016). Em 2020, ele e ainda constava nesta listagem com 9.401,65 toneladas vendidas (IBAMA, 2020). O imidacloprido tem ação sistêmica, ou seja, mesmo quando aplicado na raiz ou nas sementes, é translocado pela seiva da planta e chega ao pólen e ao néctar (GOULSON, 2013a). Essa classe de inseticidas é agonista da acetilcolina, pois se liga ao receptor nicotínico da acetilcolina e não é facilmente degradado pela enzima acetilcolinesterase, o que impede o impulso nervoso de cessar e provoca hiperexcitação, podendo ocasionar a morte (TOMIZAWA; CASIDA, 2003).

Os neonicotinoides provocam diversos efeitos nas abelhas como alterações morfofisiológicas nos órgãos, morte celular (CATAE et al., 2014a), hiperexcitação (ROSSI et al., 2013), dificuldades no forrageamento (SILVA et al., 2016) e disfunções mitocondriais neuronais (MOFFAT et al., 2019). De acordo com Powner et al, (2016) o imidacloprido também provoca queda na produção de ATP nas abelhas, o que compromete diversas funções do organismo, como defesa do sistema imune e absorção de nutrientes.

Além dos inseticidas, os herbicidas também estão entre os mais utilizados na agricultura. De acordo com Freitas e Pinheiro (2010) os herbicidas podem reduzir a quantidade de flores silvestres das quais os insetos retiram seus recursos. No Brasil, o herbicida mais utilizado é o glifosato, com uma comercialização correspondente a 246.017,51 toneladas do ingrediente ativo (IA) em 2019 (IBAMA, 2020). Ele funciona como herbicida não seletivo, sistêmico e pós-emergente (aplicado após o nascimento da planta) (ZHANG; JIANG; OU, 2011), agindo na inibição enzimática nas plantas, por meio da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs). Essa enzima é responsável pela síntese dos aminoácidos aromáticos essenciais (fenilalanina, tirosina e triptofano) (TONI; SANTANA, 2006).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos constatou-se a presença de resíduos do glifosato e de seus metabólitos em 69 amostras de mel que estavam à venda, dentre as quais 6 amostras eram brasileiras. Do total de amostras 59% continha resíduos acima do limite de quantificação do método que era de 15 partes por bilhão (RUBIO; GUO; KAMP, 2014). De acordo com Balbuena et al., (2015b) o glifosato pode gerar um estresse fisiológico, que dependendo da concentração em que a abelha for exposta pode causar danos permanentes e afetar, inclusive, a coleta de alimentos.

Um estudo realizado por Toledo e Guillén (2014) entre as espécies *A. mellifera* e *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) expostas oralmente a concentrações subletais de glifosato observou que as abelhas que se alimentaram com uma solução que continha 50% de agrotóxico morreram mais rápido do que as abelhas alimentadas somente com a solução controle. A exposição oral de *A. mellifera* a concentrações de glifosato produziu alterações na sensibilidade sensorial e déficits cognitivos em operárias dessa espécie (HERBERT et al., 2014).

O uso de agrotóxicos é comum nas culturas agrícolas, porém o uso de misturas de agrotóxicos é uma prática, com restrições na legislação brasileira, de acordo com a instrução normativa N° 40, de 11 de outubro de 2018, a qual permite a mistura de agrotóxicos em tanque, desde que haja recomendação técnica. Apesar dessa restrição a mistura é muito realizada, a fim de reduzir os custos, número de entradas na área de cultivo, volume de água, compactação do solo, entre outros fatores (GUIMARÃES, 2014).

Em 1985 as recomendações para mistura de tanque foram retiradas do ofício DIPROF/SDSV 198/85 que continha as instruções de uso de agrotóxicos encaminhado pelo Ministério da Agricultura à ANDEF (Associação Nacional de Defesa Vegetal) (LIMA, 1997). Dessa forma as misturas estavam proibidas, porém após muitos atos como moções e reuniões, em 1995 foi publicada a portaria n° 67, permitindo que as empresas incluíssem recomendações de misturas nos rótulos. Após diversos questionamentos essa portaria foi revogada em 2002 pela Instrução Normativa n° 46 (BRASIL, 2002a). A partir de então aconteceram diversas discussões a respeito e, no entendimento da AENDA (Associação Brasileira dos Defensivos Genéricos) (AENDA, 2011), a mistura era de responsabilidade de quem a praticasse. De acordo com o Decreto 4.074/02 (BRASIL, 2002b) os produtos só podem ser prescritos observando-se as recomendações em rótulo e bula, dessa forma uma mistura não pode ser prescrita.

Porém, de acordo com uma pesquisa realizada com 500 profissionais em 17 estados brasileiros, constatou-se que 97% utilizam a mistura de tanque (GAZZIERO, 2015). Diante disso, foi estabelecida uma instrução normativa com recomendações a respeito das misturas, que estabelece, entre outras coisas, que é necessário um receituário emitido pelo profissional responsável e que elas devem passar por testes em universidades ou empresas (DOU, 2017). A associação de substâncias pode ter efeitos aditivos, sinérgicos, antagônicos potencializador, sendo que a combinação dos inseticidas e herbicidas, ainda é pouco estudada.

Dentro de uma colônia, o contato com múltiplas substâncias é um fenômeno comum (LAMBERT et al., 2012), pois, durante o forrageamento os indivíduos entram em contato com diversos agrotóxicos e acabam transportando-os para dentro das colônias. A ação dos agrotóxicos, isolados e/ou combinados pode afetar o sistema imune dos indivíduos da colônia (BRANDT et al., 2017).

Um estudo realizado por Pettis e colaboradores (2013), mostrou que em todas as amostras de pólen coletado pelas abelhas diretamente das flores de culturas como melão, havia em média 10 diferentes tipos de agrotóxicos, dentre eles neonicotinóides, carbamatos e piretróides, variando de 23 a 51 ppb, valor excedente a dose responsável por matar 50% das abelhas (DL₅₀) da maioria das substâncias detectadas. Os autores concluíram que a ingestão do pólen contendo resíduos causou imunossupressão nas abelhas. Devido ao comprometimento da imunidade, a sua organização social e a alta densidade populacional, as abelhas podem propagar rapidamente doenças entre os indivíduos da colônia (CAPELLA; HARTFELDER, 1998).

As abelhas apresentam a imunidade social desenvolvida, a qual consiste em uma estratégia baseada em um comportamento de defesa, como a limpeza da colônia (CREMER; ARMITAGE; SCHMID-HEMPE, 2007; CRAUSER et al., 2010) e a imunidade individual, representada pelas barreiras dos sistemas digestórios e respiratórios (DUNN, 1986; BULET et al., 1999) além de respostas celulares e humorais.

Um dos mecanismos de resposta imune, é a alteração no número de hemócitos, principais representantes da imunidade celular que se encontram livres na hemolinfa ou aderidos a parede dos órgãos (LAVINE; STRAND, 2002; CRUZ-LANDIM, 2009). O termo hemócito inclui, entre outros, os plasmócitos e os granulócitos (EL-MOHANDES; NAFEA; FAWZY, 2010). Os plasmócitos aumentam quando a abelha é exposta a algum agente estressor e é capaz de fagocitar Já o granulócito desempenha a função de encapsular também pode e fagocitar agentes estranhos (SIVA-JOTHY; MORET; ROLFF, 2005). Além disso, os hemócitos também estão envolvidos no processo de cicatrização (KRAUTZ; AREFIN; THEOPOLD, 2014; DUBOVSKIY et al., 2016).

Outro mecanismo de resposta imune é o corpo gorduroso, local onde ocorre a maior parte da síntese de peptídeos antimicrobianos (PAMs), ligados diretamente a resposta humoral (ILYASOV et al., 2012). O corpo gorduroso é classificado em dois tipos, de acordo com a sua localização: quando está abaixo do tegumento ou entre os músculos intersegmentais é chamado de parietal ou subepidermal, e quando localizado

junto ao sistema digestório ou reprodutor é chamado de perivisceral (CRUZ-LANDIM, 2009).

Dentre os tipos de células que compõe o corpo gorduroso estão os trofócitos e os enócitos. Os trofócitos são importantes para o metabolismo, pois são responsáveis pela síntese da maior parte dos peptídeos antimicrobianos da hemolinfa (CRUZ-LANDIM, 2009) e é considerado o principal reservatório de nutrientes (LOCKE, 1984). Os enócitos, por sua vez, participam da biotransformação de substâncias químicas por meio da oxidação realizada pela enzima citocromo P450 NADPH redutase (LYCETT et al., 2006). Outra função do corpo gorduroso é a metabolização de agrotóxicos, para facilitar a excreção e evitar que danifiquem o organismo dos indivíduos (ABDALLA; DOMINGUES, 2015).

Quando os agrotóxicos não são degradados o organismo das abelhas ativa outros meios para manter a homeostase, como a produção de HSPs. Diante da exposição a fatores estressores, como agrotóxicos, a quantidade de HSPs tende a aumentar, para responder a esse estresse as células desenvolvem o processo de resposta ao choque térmico (HSR) (MEYER; SILVA, 1999). Estudos apontam que existe uma relação entre a resposta ao choque térmico e a ativação do sistema imune, pois uma exposição a agentes tóxicos aumenta a tolerância ao estresse devido a expressão dos genes alvos das respostas de choque térmico (MCKINSTRY et al., 2017; WOJDA, 2017a).

As HSPs atuam, principalmente, na proteção e manutenção de processos celulares vitais, dentre eles, o transporte de proteínas para dentro dos compartimentos celulares como retículo endoplasmático e mitocôndria, dobramento de proteínas, impedimento da agregação de proteínas indesejáveis, degradação de proteínas instáveis, controle de proteínas reguladoras, entre outras (MARIMOTO; TISSIERES; GEORGOPOULOUS, 1994; YOKOYAMA et al., 2000; KREGEL, 2002). As HSPs também são usadas para fins de monitoramento do meio ambiente celular, uma vez que altos níveis de sua expressão tem a finalidade de proteger a célula da presença de algum agente tóxico (BIERKENS, 2000).

As proteínas de choque térmico são classificadas de acordo com sua massa molecular e com suas sequências de aminoácidos (LINDQUIST, 1988). Destacam-se duas famílias: HSP70, a mais conservada filogeneticamente, que durante as situações de estresse pode inibir a morte celular, pois suprime os danos mitocondriais e a fragmentação nuclear, funcionando como antiapoptótica (MOSSER et al., 1997; MEYER; SILVA, 1999; GARRIDO et al., 2001); e HSP90, muito estudada porém sem um papel claramente

definido durante a exposição do organismo a um agente tóxico, devido aos diferentes efeitos que gera nas células expostas de acordo com o estímulo (GARRIDO et al., 2001).

Segundo um estudo realizado por SILVA-ZACARIN et al., (2006), quando o inseto é exposto aos agrotóxicos, a produção de HSP70 e HSP90 aumenta para impedir danos maiores nas células dos órgãos e prevenir a morte celular. Caso a morte celular ocorra, pode acontecer a quebra do DNA durante o processo, o que dará origem a extremidades 3'-OH, as quais são detectadas pela técnica de Tunel (*Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling*). Dessa forma o uso de técnicas que detectam variações na expressão de HSP e quebras na cadeia de DNA podem nos indicar quais os possíveis impactos de concentrações subletais de agrotóxicos nas células das abelhas.

Outra forma de analisar os efeitos causados pelos agrotóxicos nas abelhas é por meio da atividade enzimática, pois de acordo com Carvalho e colaboradores (2013), as respostas enzimáticas podem ser alteradas quando as abelhas são expostas a diferentes agrotóxicos. Muitas enzimas tem sido atualmente utilizadas como biomarcadores fisiológicos quando as abelhas são expostas aos agrotóxicos isolados e combinados (KAIRO et al., 2017; ALMASRI et al., 2021). Dentre essas enzimas, algumas tornam-se relevantes de acordo com a resposta fisiológica que se procura compreender quando as abelhas são expostas à determinados agrotóxicos.

A Acetilcolinesterase (AChE) tem a função de controlar a passagem do impulso nervoso, uma vez que ela degrada a acetilcolina e interrompe a passagem do impulso nervoso (BADIOU et al., 2007) A enzima Fosfatase alcalina (PAL), por sua vez, tem a função de clivar grupos fosfato, dessa forma é considerada uma enzima digestiva, diretamente ligada aos processos metabólicos (MOSS 1992), bem como ao sistema imune de acordo com Kairo e colaboradores (2017). Já as enzimas Fenol Oxidase (POX) e Glicose oxidase (GOX) estão relacionadas ao funcionamento do sistema imune das abelhas (KAIRO et al., 2017). Desta forma a análise da possível modulação destes biomarcadores nos organismos das abelhas é uma ferramenta promissora para avaliar o sistema imune. Portanto tal conhecimento auxiliará no entendimento de como o imidacloprido e o glifosato isolados e combinados podem interferir na imunidade individual das abelhas, bem como na alteração da atividade enzimática.

Diante da contextualização apresentada, o presente estudo visou compreender quais são os impactos que a exposição ao neonicotinóide imidacloprido e ao herbicida glifosato, de forma isolada e combinada, causa no sistema imune das abelhas, uma vez

que esse é o responsável pela proteção contra fungos, bactérias, substâncias tóxicas, entre outros agentes (PIRES et al., 2018). O declínio da eficiência desse sistema compromete a viabilidade da colônia inteira a longo prazo, prejudica o desempenho da polinização e consequentemente, a diversidade de plantas em áreas naturais e a quantidade e a qualidade da produção de alimentos, justificando a necessidade de condução de estudos dessa natureza.

2. Objetivo Geral:

Avaliar os efeitos de concentrações subletais do imidacloprido e do glifosato, de forma isolada e combinada sobre o sistema imune das abelhas *A. mellifera* africanizada e *M. quadrifasciata*.

2.1 Objetivos específicos:

Avaliar os efeitos isolados e combinados das concentrações subletais do imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) após 48 horas de exposição, sobre o sistema imune de ambas as espécies por meio da:

- Analisar morfológica dos trofócitos e enócitos do corpo gorduroso, para verificar possíveis alterações.
- Contar o número de hemócitos, a fim de verificar se a exposição altera a capacidade do sistema imune;
- Avaliar a expressão de proteínas de choque térmico (HSP70 e HSP90);
- Analisar a ocorrência de morte das células, por meio da técnica de TUNEL.
- Elucidar os efeitos dos agrotóxicos sobre por meio da modulação da atividade das enzimas AChE, GOX, POX e PAL para.

3. Material e Método

Os métodos para a coleta do material biológico e para a exposição aos agrotóxicos são os mesmos para os três capítulos e estão descritos a seguir.

3.1 Material biológico

As forrageiras das espécies *Melipona quadrifasciata* e *Apis mellifera* africanizada foram coletadas no Centro de Estudos de Insetos Sociais, - da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, campus Rio Claro. Foram utilizadas três colônias diferentes, para garantir a variabilidade genética. As abelhas foram acondicionadas em potes plásticos de 250mL (10 abelhas por pote/concentração), previamente furados para entrada de ar e fornecimento de alimento (solução de sacarose 50% v/v). Os experimentos foram conduzidos em estufa para demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D) com temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para *M. quadrifasciata*, e $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para *A. mellifera*

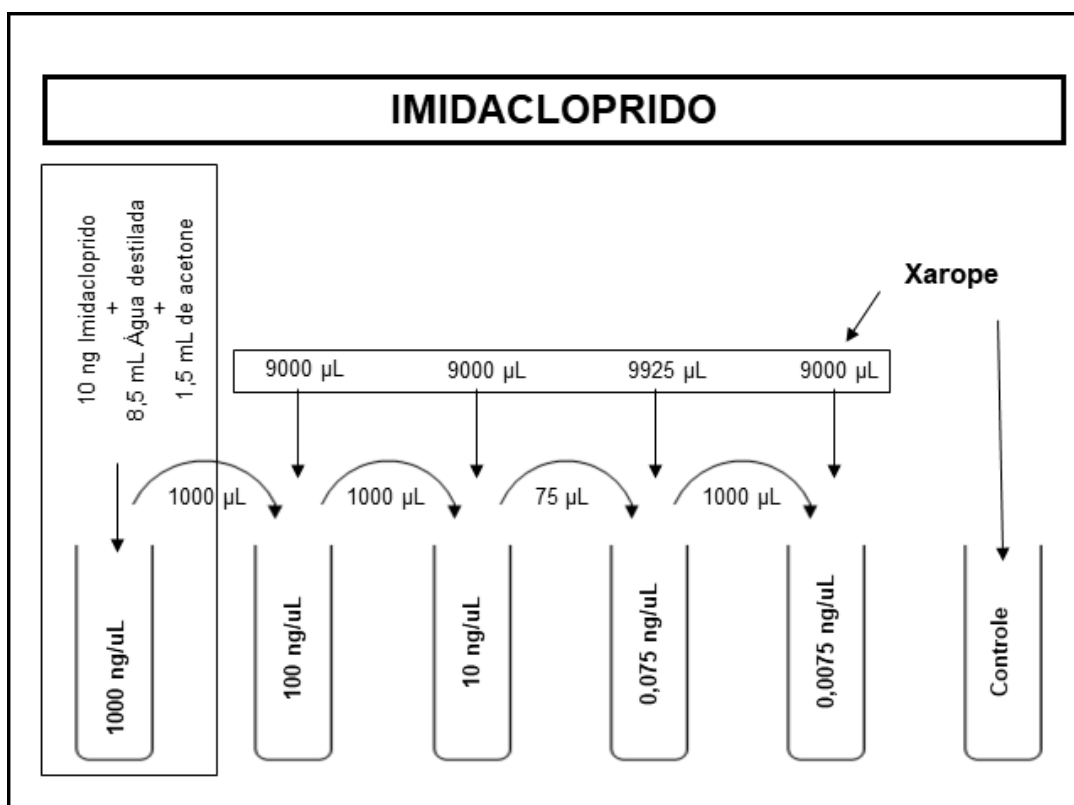
africanizada. A umidade relativa para ambas foi de $70\% \pm 5\%$, de acordo com o protocolo da OECD (1998b) estabelecido para *A. mellifera* e adaptado para *M. quadrifasciata*.

3.2 Exposição aos agrotóxicos

As abelhas foram expostas a concentrações subletais oferecidas no alimento *ad libitum* (sacarose e água 1:1, v/v). Os testes toxicológicos foram padronizados, com o uso do inseticida Dimetoato solubilizado em água, e posteriormente diluído no alimento. De acordo com a OECD (1998b), este ingrediente ativo é considerado padrão, devido a sua estabilidade durante os testes, dessa forma realizamos o teste com esse ingrediente ativo. Para garantir que os efeitos encontrados durante as análises seriam devido a exposição aos agrotóxicos analisados no presente trabalho. A concentração recomendada de dimetoato para *A. mellifera* é relatada dentro de um intervalo de 0,10-0,35 $\mu\text{g i.a/abelha}$ (GOUGH; MCINDOE; LEWIS, 1994). A mesma concentração foi testada e ajustada para a espécie *M. quadrifasciata*.

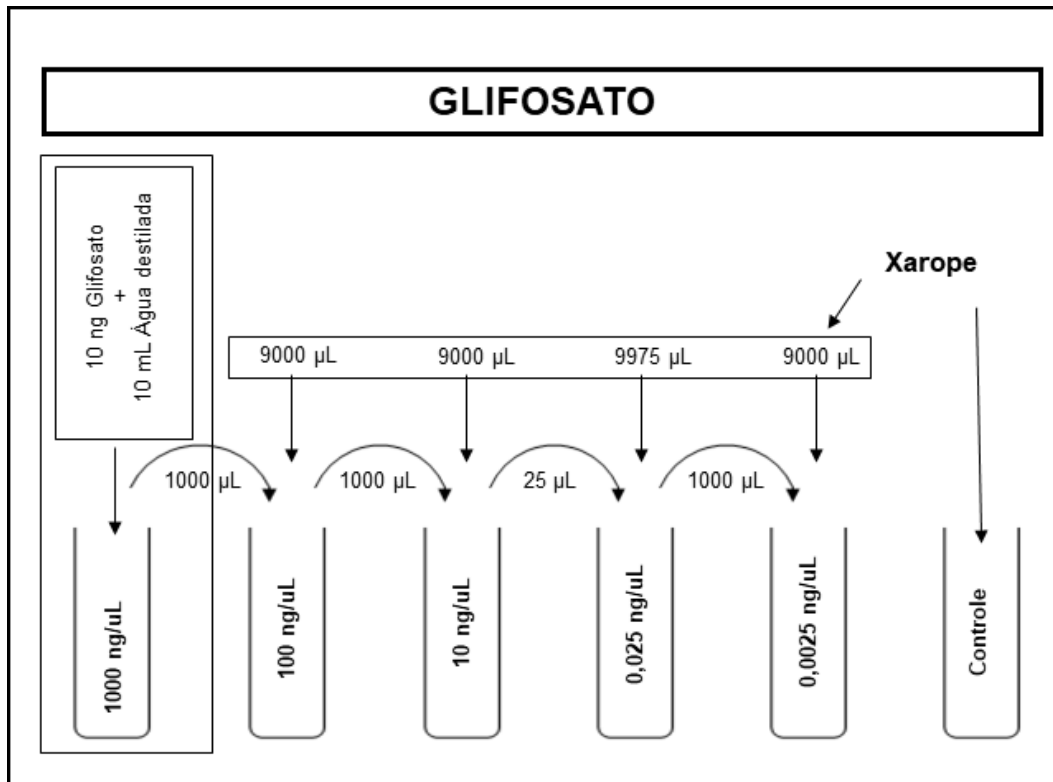
As análises foram realizadas após 48 horas do início da exposição das abelhas a concentrações subletais do imidacloprido e do glifosato, de forma isolada e combinadas. As abelhas do grupo controle receberam o alimento sem inseticida. Não foi realizado um controle acetona, uma vez que os cálculos indicaram que o valor de acetona que chegava na concentração utilizada era mínimo, e estava dentro dos padrões estabelecidos pela OECD. O inseticida imidacloprido (Sigma-Aldrich) foi solubilizado em 15% de acetona e 85% de água e, posteriormente, foram realizadas sucessivas diluições no alimento (Figura 1). Para obtermos a concentração a qual as abelhas foram expostas, realizamos uma média entre os resultados de trabalhos que calcularam a CL_{50} (concentração letal média) para as duas espécies estudadas, como Costa et al (2015) e Soares-Lima (2017) e obteve-se a concentração de 0,0075 ng de imidacloprido/ μL de dieta ($CL_{50/1000}$).

Figura 1: Diluição seriada do inseticida imidacloprido.



Para o herbicida glifosato, diluído em água, a concentração recomendada, para controle de plantas daninhas, está dentro da faixa de 1,4 ng de glifosato/ μL a 3,7 de glifosato/ μL (COUTURE; LEGRIS; LANGEVIN, 1995; GIESY; DOBSON; SOLOMON, 2000; SOLOMON; THOMPSON, 2003). Como trabalhamos com concentrações subletais, a média dos valores citados acima foi dividida por 1000, assim como a CL_{50} do imidacloprido, dessa forma, a concentração utilizada foi de 0.0025 ng de glifosato/ μL de dieta (Figura 2).

Figura 2: Diluição seriada do herbicida glifosato.



Os resultados do presente trabalho serão apresentados em forma de artigo:

1º artigo, referente ao capítulo 1:

Agrotóxicos isolados e combinados afetam o sistema imune das abelhas?

2º artigo, referente ao capítulo 2:

Mistura de inseticida e herbicida em concentrações subletais induz ao estresse celular no corpo gorduroso de abelhas

3º artigo, referente ao capítulo 3:

Resposta enzimática em abelhas exótica e nativa expostas a agrotóxicos

4. Capítulo 1

O artigo referente a este capítulo será submetido para publicação na Chemosphere.

Agrotóxicos isolados e combinados afetam o sistema imune das abelhas?

Tatiane Caroline Grella¹, Adna Suelen Dorigo¹, Osmar Malaspina¹, Roberta Cornélio Ferreira Nocelli².

¹ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Campus de Rio Claro.

² Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Araras.

4.1 Resumo

O sistema imune inato das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* é responsável pela reação celular do organismo, que está relacionada com os hemócitos presentes na hemolinfa. Além dos hemócitos, o corpo gorduroso também é de extrema importância para o sistema imune das abelhas, atuando no processo de desintoxicação do organismo. A exposição das abelhas a agrotóxicos pode causar alterações na capacidade de defesa do sistema imune inato, uma vez que alteram a quantidade de hemócitos e a morfologia das células do corpo gorduroso. Agrotóxicos de ação sistêmica, como o imidacloprido, chegam ao néctar e ao pólen representando um risco para as abelhas, assim como, o herbicida glifosato que também pode apresentar riscos, causando alterações morfológicas e fisiológicas. Devido a isso, o presente trabalho teve como finalidade avaliar os efeitos do imidacloprido e do glifosato isolados e combinados em forrageiras de *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* por meio das técnicas de contagem de hemócitos e da análise morfológica das células do corpo gorduroso. Para isso, as abelhas foram coletadas e alimentadas com soluções de sacarose contendo diferentes concentrações de agrotóxicos isolados e combinados (0,0075ng imidacloprido/ μ L e 0,0025ng glifosato/ μ L). Para a realização das técnicas, 15 abelhas de cada grupo foram anestesiadas após 48 horas do início da exposição oral. Para a técnica com hematoxilina e eosina, as abelhas foram dissecadas para coleta do corpo gorduroso. Em seguida o material passou pelo protocolo de dupla coloração, e os cortes foram analisados e fotografados em fotomicroscópio de luz e avaliados quantitativamente. Já para a coleta de hemolinfa, seguimos o método descrito por Butolo e colaboradores (2021), utilizamos a câmara de Neubauer para a contagem de hemócitos e o programa Rstudios para a análise estatística. A partir das realizações das técnicas observamos que houve alteração na morfologia dos trofócitos e enócitos quando comparamos os grupos expostos ao controle para ambas as abelhas. Para a contagem de hemócitos não observamos diferença estatística entre os grupos analisados para ambas as espécies, porém, observamos diferença estatística entre as espécies analisadas. De acordo com os resultados observados, podemos inferir que a exposição das abelhas aos agrotóxicos, isolados e combinados, pode comprometer o funcionamento do sistema imune inato das abelhas, uma vez que afeta a morfologia dos trofócitos e enócitos, e conseqüentemente funções do organismo, como reserva de nutrientes, desintoxicação, síntese de proteínas da hemolinfa, dentre outras.

Palavras-chave: Imidacloprido, glifosato, hemócitos, corpo gorduroso, *Apis mellifera*, *Melipona quadrifasciata*.

4.2 Introdução

As abelhas, assim como os demais insetos, não têm a capacidade de adquirir um sistema imune, uma vez que não possuem memória imunológica. Assim, apresentam um sistema que é dividido em imune social e imune inato (LAVINE; STRAND, 2002). O sistema imune social tem a função de evitar infecções na colônia, por isso ele atua em ações como, limpeza do ninho, aplicação de substâncias antimicrobianas, proteção do ninho contra insetos contaminados, presença de fungos, entre outros (MEUNIER, 2015). Já o sistema imune inato é o responsável por proteger o organismo do indivíduo, sendo constituído por barreiras físicas e celulares.

As barreiras físicas consistem no tegumento, protegendo os órgãos internos, contra a entrada de agentes externos, e as barreiras físicas no intestino, que protege o organismo caso algum agente contaminante seja ingerido (LAVINE; STRAND, 2002; CRUZ LANDIM, 2009). As barreiras celulares são responsáveis por dois tipos de reação nos insetos, a humoral e a celular. A primeira é responsável pelos processos de coagulação da hemolinfa e melanização das ações das proteínas. A segunda está relacionada com o hemócitos presentes na hemolinfa (KAVANAGH; REEVES, 2004; ARMSTRONG; MELCHIOR; QUIGLEY, 1996; CRUZ-LANDIM, 2009).

Os hemócitos tem diversas funções nos organismos das abelhas, dentre elas fagocitose, encapsulamento, secreção de enzimas, coagulação da hemolinfa, citotoxicidade, dentre outras que sofrem variações de acordo com a idade do indivíduo (GILLESPIE et al., 1997; LAVINE; STRAND, 2002; CRUZ-LANDIM, 2009). Além dos hemócitos, o corpo gorduroso também é de extrema importância para o sistema imune das abelhas, uma vez que é fundamental no processo de desintoxicação do organismo (GONG; DIAO, 2017).

O corpo gorduroso é um tecido composto por células de origem mesodérmica, os trofócitos, e de origem ectodérmica, os enócitos (CRUZ-LANDIM, 2009). Possui grande importância em diversos processos no organismo das abelhas, como nutrição, reprodução, e desintoxicação (LI et al., 2019). O corpo gorduroso também é responsável pela síntese de diversas proteínas presentes na hemolinfa (CRUZ-LANDIM, 2009; ARRESE; SOULAGES, 2010; LI et al., 2019).

A quantidade de células presentes na hemolinfa são fundamentais para que o organismo consiga se defender de forma eficiente contra agentes abióticos, como os agrotóxicos, por meio da melanização, por exemplo (CRUZLANDIM, 2009). Diversos trabalhos mostram que a exposição das abelhas a agrotóxicos pode causar alterações na

capacidade de defesa do sistema imune inato, a exemplo de respostas antivirais, super expressão das enzimas de desintoxicação, produzidas no corpo gorduroso e intestino médio (ALAUX et al., 2010; GARRIDO et al., 2013; MASON, 2013). Isso pode ocorrer porque os agrotóxicos alteram a quantidade de hemócitos circulantes na hemolinfa e a morfologia das células do corpo gorduroso, afetando seu desempenho (BRANDT et al., 2016, 2017; DOMINGUES et al., 2017; TAVARES et al., 2017).

Do acordo com Chan e colaboradores (2006) as abelhas possuem apenas 2/3 dos genes de imunidade quando comparada a outros insetos, o que significa que os danos causados podem ser intensificados, ainda mais os danos causados pela exposição a inseticidas, como o imidacloprido e herbicidas, como o glifosato. Ambos estão dentre os ingredientes ativos mais utilizados em culturas no Brasil.

Estudos mostram que os agrotóxicos de ação sistêmica, como o imidacloprido, atingem o néctar e o pólen, representando um risco alto para as abelhas (DECOURTYE; DEVILLERS, 2010; RONDEAU et al., 2014; POTTS et al., 2016;). Resíduos desses inseticidas já foram detectados em pólen de diversas plantas (DAVID et al., 2015; PETTIS et al., 2013). Concentrações subletais do inseticida imidacloprido podem levar a diversas consequências, como alteração morfológicas, fisiológicas, comportamentais, dentre outras (BLACQUIÈRE et al., 2012; BRANDT et al., 2017; ALMASRI et al., 2021; DE ASSIS et al., 2022).

Assim como o inseticida, o herbicida também pode causar alterações morfológicas e fisiológicas, como relataram Fanta e colaboradores (2018) que discutiram o impacto do glifosato nas deformações da mitocôndria, na produção de moléculas químicas e na regulação térmica (HELMER et al., 2015). Abraham e colaboradores (2018) também observaram uma alta mortalidade das abelhas expostas ao herbicida glifosato.

Nos últimos anos, uma das maiores preocupações acerca do declínio de populações de abelhas está o fato de que, no ambiente agrícola, elas podem estar expostas a ação de agrotóxicos de forma isolada, mas também de forma combinada, o que pode potencializar ou anular os efeitos dos agrotóxicos (PILLING; JEPSON, 1993). A compreensão dos efeitos de uma mistura para as abelhas é uma grande lacuna no conhecimento (HAVARD; LAURENT; CHAUZAT, 2020; SIVITER et al., 2021; DI NOI et al., 2021). Além disso, as avaliações de risco focam em efeitos letais, e os atuais debates enfatizam a necessidade de uma abordagem mais holística em relação a isso, a exemplo da inserção de efeitos subletais.

De acordo com Tosi e colaboradores (2022) é grande a falta de informações a respeito dos efeitos subletais dos agrotóxicos para as abelhas, o que não permite uma avaliação precisa dos danos que concentrações subletais podem causar. Sgolastra e colaboradores (2016) analisaram o efeito subletal da mistura de um inseticida neonicotinoide com um fungicida e observaram que a exposição induziu a morte das abelhas *Apis mellifera*, *Bombus terrestris* e *Osmia bicornis*. Ultimamente, o aumento da mortalidade e a perda de colônias de abelhas tem sido associado a uma competência imunológica prejudicada (GÄTSCHENBERGER et al., 2013; ALAUX et al., 2014; STEINMANN et al., 2015).

O uso desses agrotóxicos pode afetar o sistema imune das abelhas e conseqüentemente a homeostase do organismo, podendo levar o indivíduo a morte (BOŽENA; JEĐRUSZUKB, 2003). Dessa forma, a análise da quantidade de hemócitos e da morfologia das células do corpo gorduroso é essencial para avaliar os efeitos dos agrotóxicos nas abelhas (MALASPINA; SILVA-ZACARIN, 2006). Devido a isso, o presente trabalho teve como finalidade avaliar os efeitos sobre o sistema imune, do inseticida imidacloprido e do herbicida glifosato isolados e combinados em forrageiras de *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* através das técnicas de contagem de hemócitos e análise morfológica das células do corpo gorduroso.

4.3 Material e Método

4.3.1 Microscopia de luz: Coloração de hematoxilina e eosina

Para a análise das células de corpo gorduroso através da técnica de dupla coloração foram utilizadas 15 abelhas de cada grupo experimental (0,0075ng imidacloprido/ μ L e 0,0025ng glifosato/ μ L), sendo 5 abelhas de cada colônia. As abelhas foram anestesiadas em freezer (cerca de 3 minutos) e, em seguida, passaram pela dissecação. Após a dissecação dos abdomens, os mesmos foram fixados em paraformaldeído 4% por 24 horas em temperatura ambiente e estabilizados em Tampão Fosfato de Sódio (PBS), pH 7,4 e 0,1 M, também por 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foi realizado o protocolo padrão para inclusão em historesina Leica para análises morfológicas. Os blocos confeccionados a partir da inclusão, foram seccionados com 5 μ m de espessura em um micrótomo (Leica). Em seguida, os cortes foram colocados em lâminas histológicas, e passaram pela dupla coloração com Hematoxilina e Eosina estabelecido por Junqueira; Junqueira (1983). Posteriormente, foram secas e montadas em DPX (Distrene Plasticiser Xylene), meio de montagem permanente. Os cortes foram analisados e fotografados em

foto-microscópio de luz Leica utilizando-se o programa DP Controller para aquisição das imagens. Foram analisadas 60 fotomicrografias de cada grupo experimental, dessa forma feitas 4 fotos de cada abelha para cada grupo experimental.

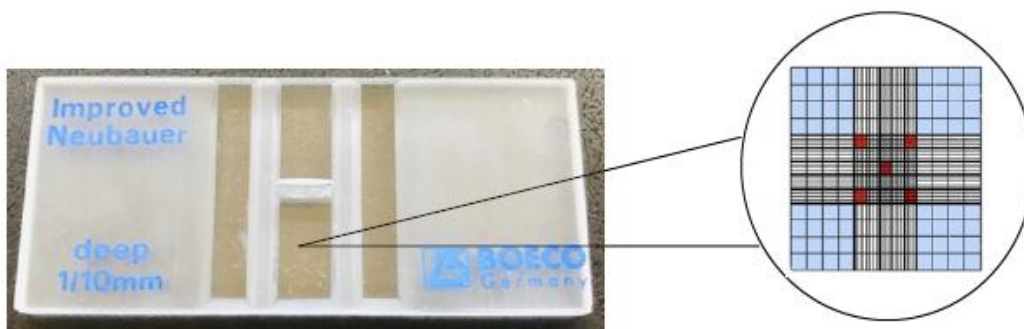
4.3.2 Coleta de hemolinfa

Para a coleta da hemolinfa foram utilizadas 15 abelhas de cada grupo experimental, sendo 5 de cada colônia. A hemolinfa foi extraída seguindo o método descrito por Butolo e colaboradores (2021), que consiste em anestesiá-las previamente a 4°C. Em seguida foram retiradas as cabeças com o auxílio de uma tesoura oftalmológica e 5uL de hemolinfa foi coletada de uma abertura presente no tórax com o auxílio de uma micropipeta, posteriormente, a hemolinfa foi acondicionada em microtubos de polipropileno de 1,5mL (um abelha por microtubo).

4.3.3 Contagem total de hemócitos

Após a extração de 5uL de hemolinfa de cada indivíduo, a mesma foi misturada com 5uL do corante azul de metileno 2% (v/v). Em seguida, foi colocado 5uL da solução em cada lado da câmara de Neubauer e, com auxílio do microscópio de luz de campo claro (OLYMPUS, modelo BX51) e objetiva de 40X (aumento final de 400X), procedeu-se a contagem em 5 quadrantes da câmara (Figura 1).

Figura 1: Aumento da câmara de Neubauer demonstrando os 5 quadrantes onde foram realizadas as contagens dos hemócitos presentes. Fonte: (AZEVEDO et al., 2020)



Após a contagem do número de hemócitos, foi utilizada a fórmula adaptada por Domingues e colaboradores (2017) para obter o valor de hemócitos/mL de hemolinfa.

$$\text{Hemócitos/mL} = \frac{n^{\circ} \text{ de hemócitos contados}}{n^{\circ} \text{ de quadrantes contados}} \times F.D. \times F.C.$$

O fator de diluição (F.D.) utilizado para todas as amostras é 1 e o fator de correção (F.C.) é 10^4 , número este pré-estabelecido para câmara de Neubauer.

4.3.4 Análise estatística

Em relação as células do corpo gorduroso, a análise realizada foi qualitativa. Dessa forma, as comparações foram realizadas em relação a dados da literatura e ao grupo controle. Já para o número de hemócitos presentes na hemolinfa os dados originais ou transformados pelo método de Box-Cox (1964) não atenderam as pressuposições do modelo da análise de variância (normalidade e homogeneidade). Dessa forma, fez-se uso do teste de comparação das medianas. O procedimento utilizado consiste em um teste não paramétrico para múltiplas amostras independentes. Em resumo, o teste da mediana, que é disponibilizado pela função `median.test` do pacote “*agricolae*” (Mendiburu et al., 2019) do programa R (R Core Team, 2021) foi projetado para examinar se várias amostras vieram de populações com a mesma mediana.

4.4. Resultados

A partir da realização da técnica de hematoxilina e eosina observamos que para *A. mellifera* (Figura 2) e *M. quadrifasciata* (Figura 3) as alterações nos trofócitos aumentou no grupo exposto ao inseticida imidacloprido quando comparado aos demais grupos. Em relação a morfologia dos trofócitos, observamos aumento da vacuolização e invaginação nuclear quando comparamos, qualitativamente, os grupos expostos ao controle.

Já em relação aos enócitos notamos uma queda nas alterações das células para os grupos expostos quando comparados ao controle, para a abelhas exótica *A. mellifera* (Figura 2B). Para a abelha nativa *M. quadrifasciata* observamos a mesma queda para o grupo exposto ao glifosato em relação aos demais grupos analisados (Figura 3C). Além da diferença na quantidade de células também observamos que a morfologia do enócitos apresentou vacuolização e formato irregular nos grupos expostos aos agrotóxicos.

Figura 2: Fotomicrografias dos enócitos e trofócitos do corpo gorduroso parietal de forrageiras de *A. mellifera* africanizada após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Secções histológicas coradas com hematoxilina e eosina. (A) Controle; (B) Imidacloprido; (C) Glifosato; (D) Mistura. en = enócito, tr = trofócito, cp = células pericárdicas, seta preta indica enócitos com morfologia atípica.

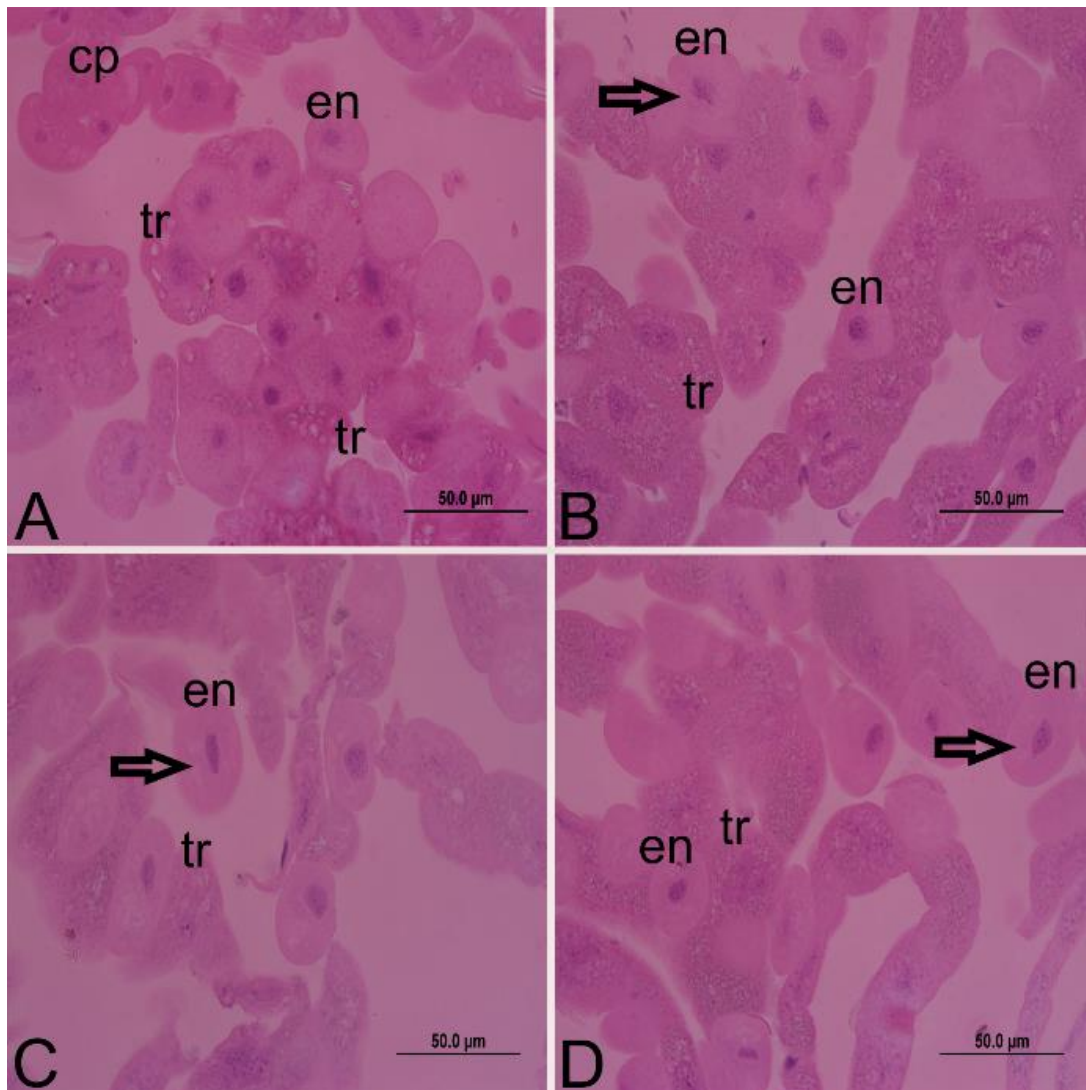
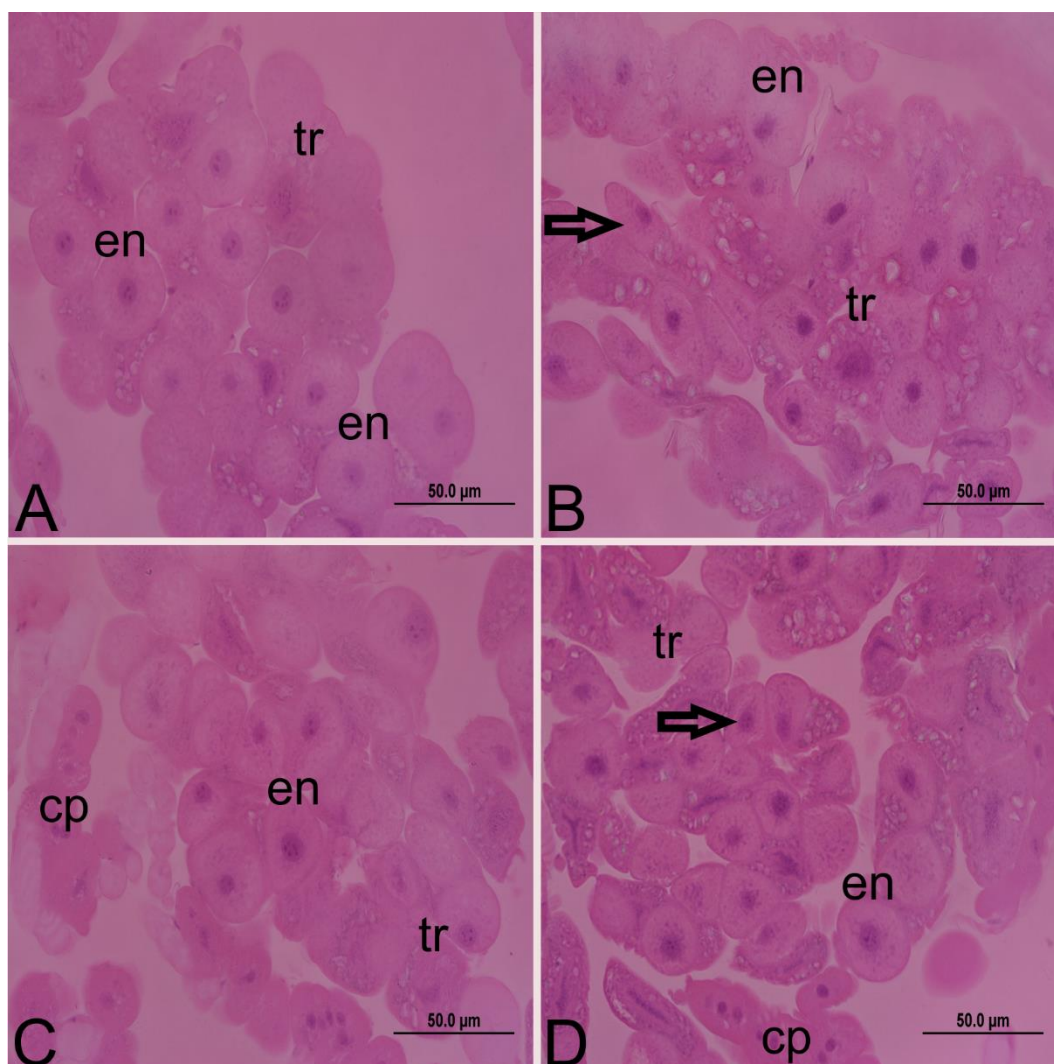


Figura 3: Fotomicrografias dos enócitos e trofócitos do corpo gorduroso parietal de forrageiras de *M. quadrifasciata* após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Secções histológicas coradas com hematoxilina e eosina. (A) Controle; (B) Imidacloprido; (C) Glifosato; (D) Mistura. en = enócito, tf = trofócito, seta preta indica enócitos com morfologia atípica.



A partir das contagens de hemócitos na hemolinfa das forrageiras de *A. mellifera* e *M. quadrifasciata*, observamos que o material coletado estava límpido e apresentava poucos hemócitos. Quando analisamos os dados para os diferentes grupos analisados, verificamos que não houve diferença estatística entre os grupos de *A. mellifera* e nem de *M. quadrifasciata*. Porém, observamos diferença estatística entre as duas espécies quando

comparamos o grupo imidacloprido, a espécie *M. quadrifasciata* apresentou um número mais elevado de hemócitos por mililitro de hemolinfa quando comparada a espécie *A. mellifera* (Figura 4 e 5).

Figura 4: Fotomicrografias dos hemócitos da hemolinfa de forrageiras de *M. quadrifasciata* após 48 horas de exposição aos agrotóxicos por via oral. Hemolinfa corada com azul de metileno a 2% e observada na câmara de Neubauer. (A) Controle; (B) Imidacloprido; (C) Glifosato; (D) Mistura. As setas pretas indicam os hemócitos.

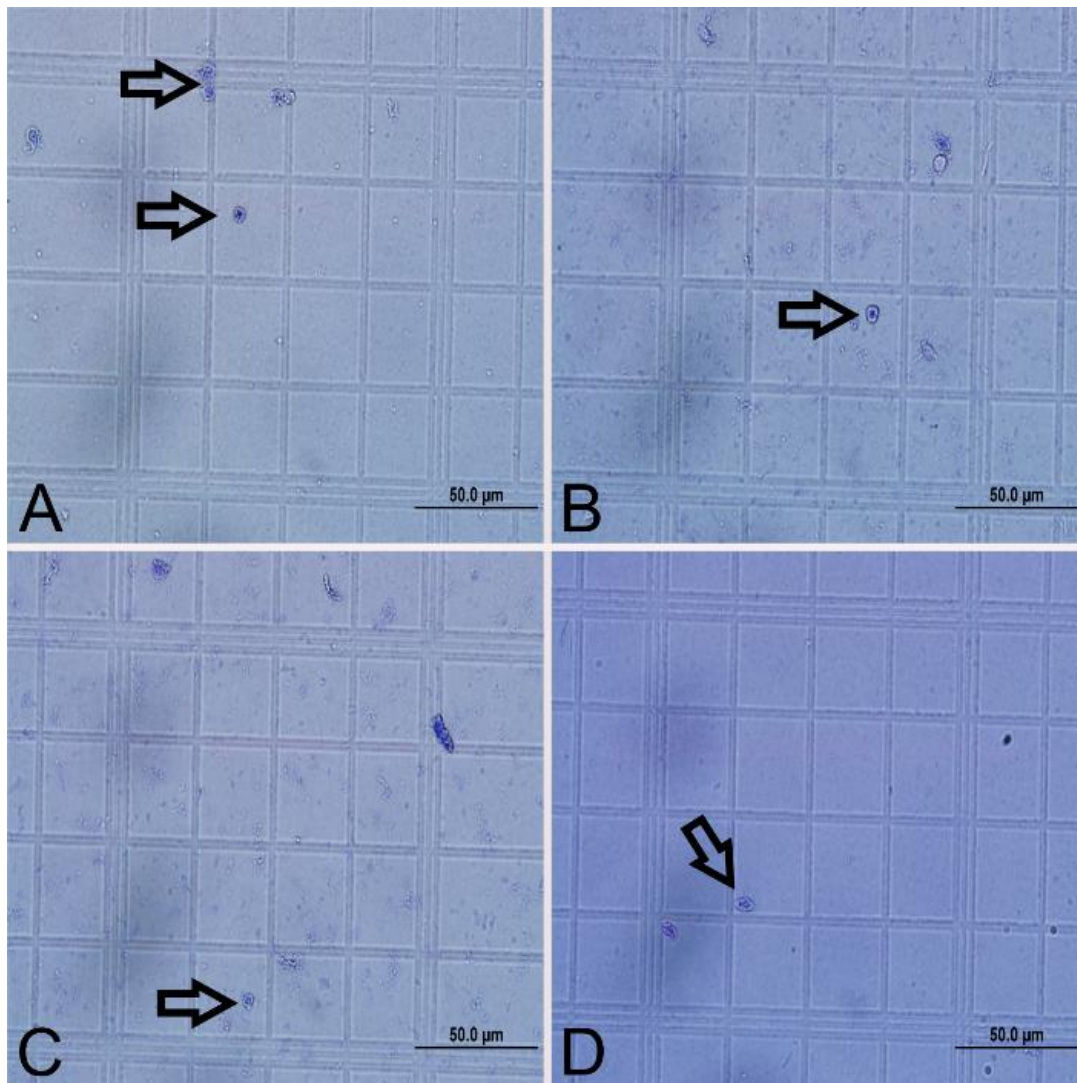
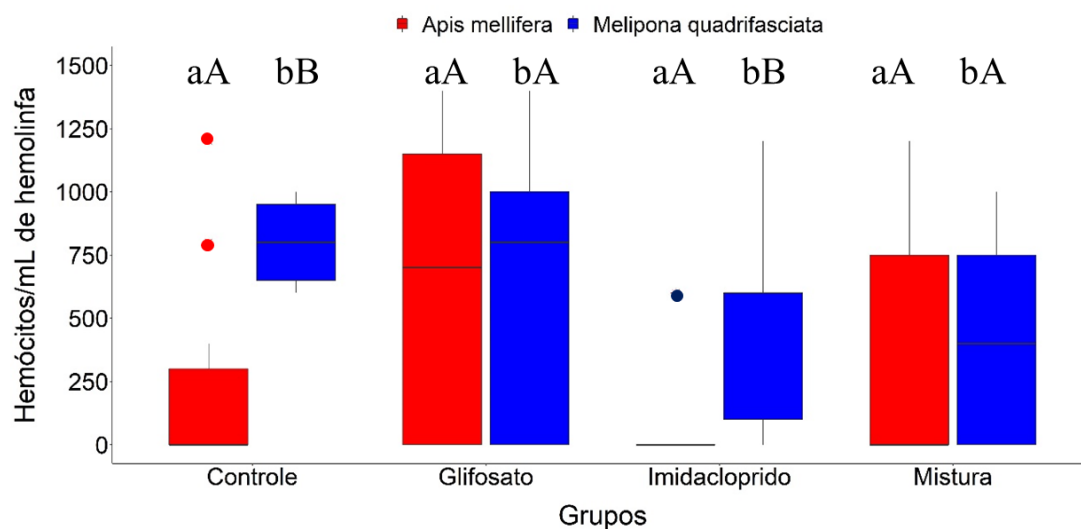


Figura 5: Boxplot mostrando os hemócitos/mL de hemolinfa. *Apis mellifera* em vermelho e *Melipona quadrifasciata* em azul. As comparações foram feitas entre os grupos para ambas as espécies e entre as duas espécies. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações entre os grupos para a mesma espécie) e maiúsculas (comparações entre as espécies para cada grupo) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P=0,05$).



4.5 Discussão

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, observamos que a morfologia e a quantidade de células do corpo gorduroso sofrem alterações de acordo com os diferentes agrotóxicos, aos quais as espécies são expostas. De acordo com Abdalla e Domingues (2015), o corpo gorduroso é considerado um importante órgão para avaliações toxicológicas em abelhas. Diversos trabalhos concluíram que o corpo gorduroso é um órgão altamente responsivo a fatores estressores, como os agrotóxicos (ALVES; SERRÃO; MELO, 2010; SOUSA et al., 2013; DOMINGUES et al., 2017; BALSAMO et al., 2020; DE ASSIS et al., 2022).

No presente estudo, ambas as espécies analisadas (*A.mellifera* e *M. quadrifasciata*) apresentaram um aumento nas alterações de trofócitos após 48 horas da exposição ao imidacloprido quando comparados aos demais grupos estudados, o que pode ser indicio de que o inseticida neonicotinóide utilizado neste estudo pode estar comprometendo a atividade dos trofócitos, os quais tem diversas funções, como reserva de nutrientes, síntese de proteínas da hemolinfa e desintoxicação (CRUZ-LANDIMM, 2009; LOCKE, 1984; GRZELAK; KUMARAN, 1986;).

Diversos estudos realizados com neonicotinóides relataram alterações nos trofócitos quando expostos a inseticidas isolados, como Assis e colaboradores (2022) que verificaram alterações morfológicas nas células do corpo gorduroso exposto ao imidacloprido. Os resultados encontrados pelos autores corroboram com o presente trabalho, uma vez que os trofócitos expostos aos agrotóxicos apresentaram diferenças morfológicas em relação ao controle, como aumento de vacuolização e de invaginação nuclear. A partir das observações realizadas, podemos inferir que os trofócitos das abelhas expostas aos agrotóxicos responderam com mecanismos para desintoxicação do organismo, uma vez que o aumento de ramificações ao redor do núcleo são indícios de maior atividade celular (LOCKE, 1984).

Além de ter a função de desintoxicar o organismo, os trofócitos também são essenciais no processo de armazenamento de energia na forma de glicogênio (PAES DE OLIVEIRA; CRUZ-LANDIM, 2003). No presente trabalho observamos um aumento na vacuolização dessas células, o que pode ser indicio de aumento da reserva energética, que pode ser uma estratégia de proteção do organismo, uma vez que a presença de agrotóxicos afeta a absorção de nutrientes pelo intestino, e portanto, seria necessário retirar nutrientes dos trofócitos, que são células especializadas em armazenar essas moléculas (LOCKE, 1984; GRZELAK; KUMARAN, 1986;; PAES DE OLIVEIRA; CRUZ-LANDIM, 2003; CAMPBELL et al., 2016).

Outra célula presente no corpo gorduroso é o enócito, os quais estão distribuídos entre os trofócitos e possuem diversas funções como a síntese de hidrocarbonetos (ROMER; EMMERICH; NOWOCK, 1974), síntese de hormônios (LYCETT et al., 2006), regulação de genes e mecanismos de desintoxicação (TAKEUCHI et al., 2007; CHAPMAN, 2013). No presente trabalho observamos uma queda nas alterações dos enócitos nos grupos expostos aos agrotóxicos em relação ao controle para a espécie exótica *A. mellifera*, característica que se repetiu para a espécie nativa *M. quadrifasciata* quando comparamos o grupo exposto ao glifosato em relação aos demais. A partir das observações realizadas no presente trabalho, podemos inferir que a exposição da abelha *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* aos agrotóxicos pode causar danos ao organismo, uma vez que a queda nas alterações celulares pode comprometer a desintoxicação.

Outra observação realizada durante o estudo foi em relação a morfologia dos enócitos, os quais apresentaram aumento da vacuolização e formato celular irregular para todos os grupos expostos aos agrotóxicos isolados ou combinados, diferente do grupo controle, no qual os enócitos apresentaram morfologia típica, que consiste em um formato

elíptico, com contornos bem delimitados, ausência de grânulos no citoplasma e núcleo central (DA CRUZ-LANDIM, 1983; DEAN; LOCKE; COLLINS, 1985; MARTINS; RAMALHO-ORTIGÃO, 2012). Esses dados corroboram com o estudo realizado por Assis e colaboradores (2022) que observaram vacuolização e alterações nucleares nos enócitos dos grupos expostos ao imidacloprido e a piraclostrobina de forma isolada e combinada, concluindo que o inseticida causou maiores danos aos enócitos quando comparados ao fungicida. Outros trabalhos também observaram alterações nos enócitos, como Domingues e colaboradores (2017) que expuseram abelhas ao neonicotinoide tiametoxan e observaram enócitos com formatos atípicos.

Uma hipótese para a alteração morfológica nos enócitos é o estresse sofrido por essas células quando expostas aos agrotóxicos, os quais podem inativar as mesmas. Cousin e colaboradores (2013) observaram enócitos com volume reduzido em larvas expostas a herbicida e enfatizaram a sensibilidade dos enócitos expostos a concentrações de agrotóxicos. Diversos trabalhos mostram a importância do corpo gorduroso no organismo, uma vez que ele é fundamental no processo de metabolização dos agrotóxicos (AMIRESSAMI, 1973; LYCETT et al., 2006; COUSIN et al., 2013; ABDALLA; DOMINGUES, 2015; LI; YU; FENG, 2019c; BALSAMO et al., 2020). Alterações no número e na morfologia de células do corpo gorduroso podem afetar o contato e a troca de metabólitos que esse órgão tem com a hemolinfa, prejudicando assim todo o processo de desintoxicação do organismo quando exposto a algum agrotóxico (ROMA; BUENO; CAMARGO-MATHIAS, 2010).

A análise dos resultados obtidos em relação a quantidade de hemócitos por mililitros de hemolinfa das abelhas forrageiras das espécies *A. mellifera* e *M. quadrifasciata*, revelou que a quantidade de hemócitos é baixa, em relação as larvas analisadas por Butolo e colaboradores (2021) que observaram um número cerca de quatro vezes maior de hemócitos por mililitros. Os insetos holometábolos sofrem drásticas mudanças morfológicas e fisiológicas ao longo do seu desenvolvimento, as células da hemolinfa podem diferir significativamente quando comparamos as larvas aos adultos (NEGRI et al., 2014, 2015).

Dessa forma, o número baixo de hemócitos encontrado no presente trabalho pode estar relacionado a idade dos indivíduos, uma vez que são abelhas forrageiras, ou seja, são as mais velhas dentro da colônia e por isso desenvolvem essa função. De acordo com Schmid e colaboradores (2008) o estágio de desenvolvimento das abelhas afeta a quantidade de hemócitos circulantes na hemolinfa, os autores observaram uma redução

no número de hemócitos com o aumento da idade. A partir disso os autores concluíram que isso pode ocorrer devido a um mecanismo de redução dos gastos energéticos e por isso ocorreria a substituição da defesa celular pela defesa humoral, o que seria explicado pelo aumento da enzima fenol oxidase em forrageiras quando comparadas a recém emergidas (CHAN; HOWES; FOSTER, 2006). Dessa forma, as abelhas forrageiras utilizam uma outra forma de defesa do organismo, uma vez que ocorre a queda no número de hemócitos circulantes na hemolinfa.

Ao compararmos os diferentes grupos de cada uma das espécies notamos que não houve diferença estatística entre eles, o que pode ser justificado pelo tempo de exposição ou pela concentração de agrotóxicos isolados e combinados. Ambas as possibilidades podem explicar a ausência de alteração no número de hemócitos durante a análise. Porém, quando comparamos as duas espécies analisadas no presente trabalho, observamos que para o grupo controle o número de hemócitos foi maior para *M. quadrifasciata* em relação a *A. mellifera*, o que pode ser um indicio de que as respostas a fatores estressores são mais eficazes em *M. quadrifasciata*, uma vez que as populações de hemócitos refletem a capacidade de resposta das abelhas a estresses como a exposição a agrotóxicos (MARRINGA et al., 2014).

Um trabalhos na literatura com exposição prolongada, constatou queda no número de hemócitos de *A. mellifera* quando exposta a três inseticidas, dentre eles o imidacloprido (BRANDT et al., 2016, 2017), o que pode afetar o sistema imune das abelhas. Porém outros estudos constataram aumento no número de hemócitos após a exposição das abelhas aos agrotóxicos, sinalizando que o sistema imune está reagindo a exposição ao agente tóxico (ALAUX et al., 2010; VIDAU et al., 2011; DOMINGUES et al., 2017).

Quando ocorre a exposição a agrotóxicos por via oral, as moléculas de agrotóxicos são rapidamente absorvidas pelo intestino e entram em contato com a hemolinfa. A hemolinfa, por sua vez, realiza uma troca de metabólitos com células do corpo gorduroso que estão ao redor do vaso dorsal. Em seguida, entra no vaso dorsal e é bombeada para o cérebro (LA MORANDIN, 2003; DA CRUZ LANDIM, 2009; CHAPMAN, 2013). Dessa forma, quando um inseticida neonicotinóide afeta as células da hemolinfa ou do corpo gorduroso, a metabolização dos compostos tóxicos pode ficar comprometida e atingir o cérebro das abelhas, fazendo com que os compostos cheguem no seu órgão alvo, devido a sua ação neurotóxica. Pode ocorrer então a morte dos indivíduos por hiperexcitação, uma vez que os inseticidas como o imidacloprido agem se ligando nos receptores nicotínicos dos neurônios pós sinápticos, mas por não serem reconhecido pela enzima

acetilcolinesterase, não ocorre a degradação da ligação, o que e provoca a passagem constante do impulso nervoso (TOMIZAWA et al., 1995).

Dessa forma, estudos que analisem como ocorre a metabolização dos agrotóxicos nas células da hemolinfa e do corpo gorduroso ainda são necessários, especialmente para as espécies sem ferrão, pois existem poucos estudos sobre esse sistema para essas abelhas. Devido a isso, Hladik e colaboradores (2018) alertam sobre a importância de estudos com espécies nativas, uma vez que a maioria das pesquisas encontradas na literatura é focada em *A. mellifera*. Para este fim, o presente trabalho fornece subsídios para futuras pesquisas a respeito dos impactos de agrotóxicos isolados e combinados em espécies nativas e exóticas.

A partir dos resultados do presente trabalho, concluímos que os agrotóxicos imidacloprido e glifosato isolados e combinados não apresentaram diferença estatística em relação a quantidade de hemócitos presente na hemolinfa quando comparamos os grupos expostos ao grupo controle, porém afetaram a morfologia das células do corpo gorduroso das espécies *A. mellifera* e *M. quadrifasciata*, demonstrando sua toxicidade para esse tecido.

4.6 Agradecimentos

Processo nº 2017/21097-3 e 2019/20109-3, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

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

4.7 Referências

ABBO, Pendo M.; KAWASAKI, Joshua K.; HAMILTON, Michele; COOK, Steven C.; DEGRANDI-HOFFMAN, Gloria; LI, Wen Feng; LIU, Jie; CHEN, Yan Ping. Effects of Imidacloprid and *Varroa destructor* on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*. **Insect Science**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 467–477, 2017. DOI: 10.1111/1744-7917.12335.

ABDALLA, Fábio Camargo; DOMINGUES, Caio Eduardo da Costa. Hepato-Nephrotoxic System : A Novel Model of Biomarkers for Analysis of the Ecology of Stress in Environmental Biomonitoring. **Plos One**, [S. l.], p. 1–9, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0132349.

ABRAHAM, J.; BENHOTONS, G. S.; KRAMPAH, I.; TAGBA, J.; AMISSAH, C., &. ABRAHAM, J. D. Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. **Entomologia experimentalis et applicata**, [S. l.], v. 166, n. 8, p. 695–702, 2018.

ADAMO, S. A. Why should an immune response activate the stress response? Insights from the insects (the cricket *Gryllus texensis*). **Brain, Behavior, and Immunity**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 194–200, 2010. DOI: 10.1016/j.bbi.2009.08.003.

AENDA., ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS –. Mistura em

tanque. **Caderno AENDA**, [S. l.], v. 1, p. 1–11, 2011.

ALAUX, Cédric et al. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 774–782, 2010. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.

ALAUX, Cédric; CRAUSER, Didier; PIOZ, Maryline; SAULNIER, Cyril; LE CONTE, Yves. Parasitic and immune modulation of flight activity in honey bees tracked with optical counters. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, n. 19, p. 3416–3424, 2014. DOI: 10.1242/jeb.105783.

ALMASRI, Hanine et al. Physiological effects of the interaction between *Nosema ceranae* and sequential and overlapping exposure to glyphosate and difenoconazole in the honey bee *Apis mellifera*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 217, n. October 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112258.

ALQARNI, Abdulaziz S.; ALI, Hussain; IQBAL, Javaid; OWAYSS, Ayman A.; SMITH, Brian H. Expression of heat shock proteins in adult honey bee (*Apis mellifera* L.) workers under hot-arid subtropical ecosystems. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 26, n. 7, p. 1372–1376, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.08.017.

ALTINCICEK, Boran; KNORR, Eileen; VILCINSKAS, Andreas. Beetle immunity: Identification of immune-inducible genes from the model insect *Tribolium castaneum*. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 585–595, 2008. DOI: 10.1016/j.dci.2007.09.005.

ALVES, Stênio Nunes; SERRÃO, José Eduardo;; MELO, Alan Lane. Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 592–597, 2010.

AMIRESSAMI, Mohsen. Verhalten der Mycetozellen nach Insectizid-Einwirkung bei *Pemphigus bursarius* L.(Aphidina). **Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzen-und Umweltschutz**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 52–55, 1973.

ANTONIOU, M.; HABIB, MEM; HOWARD, CV; JENNINGS, RC; C LEIFERT, RO; NODARI, CJ; AND, Robinson7; FAGAN, J. Teratogenic Effects of Glyphosate-Based Herbicides: Divergence of Regulatory Decisions from Scientific Evidence. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 01, n. S4, 2012. DOI: 10.4172/2161-0525.s4-006.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice monográfico – G01 – Glifosato**. [s.d.]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/G01%2B%2BGlifosato.pdf/6a549ab8-990c-4c6b-b421-699e8f4b9ab4>. Acesso em: 27 jun. 2022.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. NOTA TÉCNICA N° 23. [S. l.], 2018.

ARMSTRONG, Peter B.; MELCHIOR, Ralph; QUIGLEY, James P. Humoral immunity in long-lived arthropods. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 53–64, 1996. DOI: 10.1016/0022-1910(95)00082-8.

ARRESE, Estela L.; SOULAGES, Jose L. INSECT FAT BODY: ENERGY, METABOLISM, AND REGULATION. **Annu Rev Entomol.**, [S. l.], v. 55, p. 207–225, 2010. DOI: 10.1146/annurev-ento-112408-085356.

ARRIGO, André Patrick. Human small heat shock proteins: Protein interactomes of homo- and hetero-oligomeric complexes: An update. **FEBS Letters**, [S. l.], v. 587, n. 13, p. 1959–1969, 2013. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.05.011.

AZEVEDO, Patricia; BUTOLO, Nicole Pavan; DE ALENCAR, Luciano Delmondes; SOARES-

LIMA, Hellen Maria; SALES, Victor Ribeiro; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Standardization of in vitro nervous tissue culture for honeybee: A high specificity toxicological approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 189, n. September 2019, 2020. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.110040.

BADAWY, Mohamed E. I.; NASR, Hoda M.; RABEA, Entsar I. Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 177–193, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0315-0.

BADIOU-BÉNÉTEAU, Alexandra; CARVALHO, Stephan M.; BRUNET, Jean Luc; CARVALHO, Geraldo A.; BULETÉ, Audrey; GIROUD, Barbara; BELZUNCES, Luc P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 82, p. 22–31, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 218, n. 17, p. 2799–2805, 2015. a. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie-Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **The Company of Biologists**, [S. l.], p. 2799–2805, 2015. b. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALSAMO, P. J.; DOMINGUES, C. E. D. C.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. D., GREGORC, A.; IRAZUSTA, S. P.; SALLA, R. F.; ABDALLA, F. C. Impact of sublethal doses of thiamethoxam and *Nosema ceranae* inoculation on the hepato-nephrotic system in young Africanized *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 350–361, 2020.

BASHA, Eman; O'NEILL, Heather; VIERLING, Elizabeth. Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. **Trends Biochem Sci.**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 106–117, 2012. DOI: 10.1016/j.tibs.2011.11.005.

BIERKENS, Johan G. E. A. Applications and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. **Toxicology**, [S. l.], v. 153, n. 1–3, p. 61–72, 2000. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00304-8.

BLACQUIÈRE, Tjeerd; SMAGGHE, Guy; VAN GESTEL, Cornelis A. M.; MOMMAERTS, Veerle. Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012. DOI: 10.1007/s10646-012-0863-x.

BOWEN, ID; MORGAN, SM; -, K. Mullarkey. Cell death in the salivary glands of metamorphosing *Calliphora vomitoria*. **Cell biology international**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 13–34, 1993.

BOŻENA, SZYMAŚA; JĘDRUSZUKB, Andrzej. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. **Apidologie**, [S. l.], v. 34, p. 97–102, 2003. DOI: 10.1051/apido:2003012.

BPBES. **Relatório Temático sobre Polinização , Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil**. [s.l: s.n.].

BRANDT, Annelly; GORENFLO, Anna; SIEDE, Reinhold; MEIXNER, Marina; BÜCHLER, Ralph. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 86, p. 40–47, 2016. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.01.001.

BRANDT, Annelly; GRIKSCHKEIT, Katharina; SIEDE, Reinhold; GROSSE, Robert; MEIXNER, Marina Doris; BÜCHLER, Ralph. Immunosuppression in Honeybee Queens by the Neonicotinoids Thiacloprid and Clothianidin. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-04734-1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 46, de 24 de julho de 2002. Determina às empresas titulares de registros de agrotóxicos a retirada das indicações de misturas em tanque dos rótulos e bulas de seus agrotóxicos. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 4074 que regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providências. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. b.

BROSI, Berry J.; BRIGGS, Heather M. Single pollinator species losses reduce floral fidelity and plant reproductive function. **PNAS**, [S. l.], v. 110, n. 32, p. 13044–13048, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1307438110.

BUCEKOVA, M.; VALACHOVA, I.; KOHUTOVA, L.; PROCHAZKA, E.; KLAUDINY, J., &. MAJTAN, J. Honeybee glucose oxidase—its expression in honeybee workers and comparative analyses of its content and H₂O₂-mediated antibacterial activity in natural honeys. **Naturwissenschaften**, [S. l.], v. 101, n. 8, p. 661–670, 2014.

BUCKINGHAM, S. D.; LAPIED, B.; LE CORRONC, H.; GROLLEAU, F.; SATTELLE, D. B. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 200, n. 21, p. 2685–2692, 1997. DOI: 10.1242/jeb.200.21.2685.

BULET, Phillippe; HETRU, Charles; DIMARCQ, Jean-Luc; HOFFMANN, Daniéle Le. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 23, p. 329–344, 1999.

BUTOLO, N. P.; AZEVEDO, P.; ALENCAR, L. D.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Impact of low temperatures on the immune system of honeybees. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 101, n. September, p. 103082, 2021. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2021.103082.

C, Hetru; D, Hoffmann; P, Bulet. Antimicrobial peptides from insects. *In*: **Molecular mechanisms of immune response in insects**. London: Chapman and Hal, 1998. p. 40–66.

CABRERO, Pablo; POLLOCK, Valerie P.; DAVIES, Shireen A.; DOW, Julian A. T. A conserved domain of alkaline phosphatase expression in the Malpighian tubules of dipteran insects. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 207, n. 19, p. 3299–3305, 2004. DOI: 10.1242/jeb.01156.

CAMPBELL, J. B.; NATH, R.; GADAU, J.; FOX, T.; DEGRANDI-HOFFMAN, G., & HARRISON, J. F. The fungicide Pristine® inhibits mitochondrial function in vitro but not flight metabolic rates in honey bees. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 86, p. 11–16, 2016.

CAPELLA, Ines C. Schmid.; HARTFELDER, Klaus. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 44, n. 5–6, p. 385–391, 1998. DOI: 10.1016/S0022-1910(98)00027-4.

CARNEIRO, Lenise Silva; TEIXEIRA, Stéphanie Asséf Millen Valente; GONÇALVES, Wagner Gonzaga; FERNANDES, Kenner Moraes; ZANUNCIO, José Cola; SERRÃO, José Eduardo. Histochemistry, immunohistochemistry and cytochemistry of the anterior midgut region of the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Micron**, [S. l.], v. 113, n. June, p. 41–47, 2018. DOI: 10.1016/j.micron.2018.06.017.

CASIDA, John E.; DURKIN, Kathleen A. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 58, p. 99–117, 2013. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153645.

CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornelio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae).

Microscopy research and technique, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. a.

CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornélio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. b. DOI: 10.1002/jemt.22339.

CHAM, Karina O. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. **Environmental Entomology**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 36–48, 2019. DOI: 10.1093/ee/nyy137.

CHAN, Queenie W. T.; HOWES, Charles G.; FOSTER, Leonard J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. **Molecular and Cellular Proteomics**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 2252–2262, 2006. DOI: 10.1074/mcp.M600197-MCP200.

CHAPMAN, Reginald Frederick. The insects: structure and function. **Cambridge university press**, [S. l.], 2013.

CHEN, Kathryn T. et al. A Role for Intestinal Alkaline Phosphatase in the Maintenance of Local Gut Immunity. **Dig Dis Sci**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 1020–1027, 2011. DOI: 10.1007/s10620-010-1396-x.

CLARE, Daniel K.; SAIBIL, Helen R. ATP-driven molecular chaperone machines. **Biopolymers**, [S. l.], v. 99, n. 11, p. 846–859, 2013. DOI: 10.1002/bip.22361.

CLAUDIANOS, C.; RANSON, H.; JOHNSON, R. M.; BISWAS, S.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R.; FEYEREISEN, R.; OAKESHOTT, J. G. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 615–636, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x.

COSTA, L. M.; GRELLA, T. C.; BARBOSA, R. A.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015. DOI: 10.13102/sociobiology.v62i4.792.

COUSIN, Marianne; SILVA-ZACARIN, Elaine; KRETZSCHMAR, André; EL MAATAOUI, Mohamed; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Size Changes in Honey Bee Larvae Oenocytes Induced by Exposure to Paraquat at Very Low Concentrations. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0065693.

COUTURE, G.; LEGRIS, J.; LANGEVIN, R. Evaluation des impacts du glyphosate utilise dans le milieu forestier. **Ministere des Ressources Naturelles, Direction de Penvironnement forestier, Service du suivi environnemental, Charlesbourg, Quebec, Canada.**, [S. l.], 1995.

COX-FOSTER, Diana L. et al. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. **Science**, [S. l.], v. 318, n. 5848, p. 283–287, 2007. DOI: 10.1126/science.1146498.

CRAUSER, Didier; CONTE, Yves Le; ALAUX, Cédric; DUCLOZ, François. Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters**, [S. l.], v. 45, n. January, p. 562–565, 2010.

CREMER, Sylvia; ARMITAGE, Sophie A. O.; SCHMID-HEMPE, Paul. Social Immunity. **Current Biology**, [S. l.], v. 17, p. 693–702, 2007. DOI: 10.1016/j.cub.2007.06.008.

CRUZ-LANDIM, Carminda Da. Abelhas: morfologia e função de sistemas. [S. l.], 2009.

CRUZ-LANDIMM, C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. UNESP ed. São Paulo. DOI: 10.7476/9788539304301.

DA COSTA, Leticia Mariano; GRELLA, Tatiane Caroline; BARBOSA, Rodrigo Avelaira; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811

- (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015.
- DA CRUZ-LANDIM, C. O corpo gorduroso da larva de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep.(Apidae, Meliponinae). **Naturalia (São José do Rio Preto)**, [S. l.], v. 8, p. 7–23, 1983.
- DA CRUZ-LANDIM, Carminda; MELO CAVALCANTE, Vagner. Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Metamorphosis in the Midgut of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae: Apinae). **Zoological Science**, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 1099–1107, 2003. DOI: 10.2108/zsj.20.1099.
- DA CRUZ LANDIM, Carminda. **Abelhas**. [s.l: s.n.].
- DAVID, Arthur; BOTÍAS, Cristina; ABDUL-SADA, Alaa; GOULSON, Dave; HILL, Elizabeth M. Sensitive determination of mixtures of neonicotinoid and fungicide residues in pollen and single bumblebees using a scaled down QuEChERS method for exposure assessment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 407, p. 26, 2015. DOI: 10.1007/s00216-015-8986-6.
- DE ALMEIDA ROSSI, Caroline; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOŁOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Effects of sublethal doses of imidacloprid in malpighian tubules of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 76, n. 5, p. 552–558, 2013. DOI: 10.1002/jemt.22199.
- DE ASSIS, J. C.; DA COSTA DOMINGUES, C. E.; TADEI, R.; DA SILVA, C. I.; LIMA, H. M. S.; DECIO, P., &. SILVA-ZACARIN, E. C. Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 304, p. 119140, 2022.
- DE MENEZES PEDRO, Silvia Regina. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 61, n. 4, p. 348–354, 2014. DOI: 10.13102/sociobiology.v61i4.348-354.
- DE SOUSA, Cristina Soares; SERRÃO, José Eduardo; BONETTI, Ana Maria; AMARAL, Isabel Marques Rodrigues; KERR, Warwick Estevam; MARANHÃO, Andréa Queiroz; UEIRA-VIEIRA, Carlos. Insights into the *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) fat body transcriptome. **Genetics and Molecular Biology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 292–297, 2013. DOI: 10.1590/S1415-47572013000200022.
- DEAN, R. L. .; LOCKE, M. .; COLLINS, J. V. Structure of the fat body. In: KERKUT, G. A. .; GILBERT, L. I. (org.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. New. 3. ed. New York: Pergamon Press, 1985. p. 155–210.
- DÉCIO, Pâmela. **ESTRESSE CELULAR E ATIVIDADE DE ENZIMAS BIOMARCADORAS EM ABELHAS AFRICANIZADAS *Apis mellifera* LINEU, 1758 (HYMENOPTERA, APIDAE) EXPOSTAS AO TIAMETOXAM**. 2019. [S. l.], 2019.
- DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: **Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors**. Springer ed. New York. p. 85–95.
- DECOURTYE, Axel; ARMENGAUD, Catherine; RENO, Michel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; GAUTHIER, Monique; PHAM-DELÈGUE, Minh Hà. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 83–92, 2004. a. DOI: 10.1016/j.pestbp.2003.10.001.
- DECOURTYE, Axel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; CHARRETON, Mercedes; PHAM-DELÈGUE, Minh-Hà. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 57, p. 410–419, 2004. b. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.001.
- DESNEUX, Nicolas; DECOURTYE, Axel; DELPUECH, Jean-Marie. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annu. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 52, p. 81–106, 2007.

DEVKOTA, Kedar; DHAKAL, Shiva Chandra; THAPA, Resham Bahadur. Economics of beekeeping as pollination management practices adopted by farmers in Chitwan district of Nepal. **Agriculture and Food Security**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–6, 2016. DOI: 10.1186/s40066-016-0053-9.

DI NOI, Agata; CASINI, Silvia; CAMPANI, Tommaso; CAI, Giampiero; CALIANI, Ilaria. 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**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 1–22, 2021. DOI: 10.3390/ijerph18041863.

DI PRISCO, Gennaro; CAVALIERE, Valeria; ANNOSCIA, Desiderato; VARRICCHIO, Paola; CAPRIO, Emilio; NAZZI, Francesco; GARGIULO, Giuseppe; PENNACCHIO, Francesco. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 110, n. 46, p. 18466–18471, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1314923110.

DIMITRIADIS, V. K.; KASTRITSIS, C. D. Ultrastructural Analysis of the Midgut of *Drosophila auraria* larvae-Distribution of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, Leucine Aminopeptidase, and Glycogen V. **Cytologia**, [S. l.], v. 50, p. 689–700, 1985.

DOMINGUES, Caio E. C.; ABDALLA, Fábio Camargo; BALSAMO, Paulo José; PEREIRA, Beatriz V. R.; HAUSEN, Moema de Alencar; COSTA, Monica Jones; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotoxic system of the Africanized honeybee. **Chemosphere**, [S. l.], v. 186, p. 994–1005, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.133.

DOU. PORTARIA Nº 148. **Diário Oficial da União**, [S. l.], v. 248, 2017.

DUBOVSKIY, IM; KRYUKOVA, NA; GLUPOV, VV; RATCLIFFE, NA. Encapsulation and nodulation in insects. **REVIEW**, [S. l.], p. 229–246, 2016.

DUNN, Peter E. BIOCHEMICAL ASPECTS OF INSECT IMMUNOLOGY. **Ann. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 31, p. 321–339, 1986.

EL-MOHANDES, S. S.; NAFEA, E. A.; FAWZY, A. M. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 3, p. 213–220, 2010. DOI: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.

EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana; GÓIS, Glayciane Costa; SILVA, Claudete Maria Da; SOUZA, Darklê Luiza De; SOUZA, Denize Núbria; SILVA, Patrícia Cândido da Cruz; ALVES, Elisângela de lima; RODRIGUES, Marcelo Luis. Desenvolvimento produtivo de colmeias de abelhas *Melipona scutellaris*. **Biotemas**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 59–64, 2008.

EVGEN'EV, Michael B.; GARBUZ, David G.; ZATSEPINA, Olga G. **Heat Shock Proteins and Whole Body Adaptation to Extreme Environments**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1007/978-94-017-9235-6_5.

FAITA, M. R.; DE MEDEIROS OLIVEIRA, E.; JÚNIOR, V. V. A.; ORTH, A. I., &. NODARI, R. O. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. **Chemosphere**, [S. l.], v. 211, p. 566–572, 2018.

FENG, Hongzu; WANG, Lan; LIU, Yinghong; HE, Lin; LI, Ming; LU, Wencai; XUE, Chuanhua. Molecular characterization and expression of a heat shock protein gene (HSP90) from the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 10, n. 112, p. 1–14, 2010. DOI: 10.1673/031.010.11201.

FERRANDON, Dominique; IMLER, Jean Luc; HETRU, Charles; HOFFMANN, Jules A. The *Drosophila* systemic immune response: Sensing and signalling during bacterial and fungal

infections. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. 862–874, 2007. DOI: 10.1038/nri2194.

FREE, Gary D. Variables affecting guilty pleas and convictions in rape cases: Toward a social theory of rape processing. **Social Forces**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 833–850, 1980.

FREITAS, Breno Magalhães; PINHEIRO, José Nunes. EFEITOS SUB-LETAIS DOS PESTICIDAS AGRÍCOLAS E SEUS IMPACTOS NO MANEJO DE POLINIZADORES DOS AGROECOSSISTEMAS BRASILEIROS. **Oecologia Australis**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 282–298, 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1401.17.

FREITAS, BRENO MAGALHÃES; SILVA, CLÁUDIA INÊS DA. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil: A polinização. **Agricultura e Polinizadores**, [S. l.], n. 1, p. 10–10, 2015.

FRYDMAN, Judith. F OLDING OF N EWLY T RANSLATED P ROTEINS I N V IVO : The Role of Molecular Chaperones. **Annu. Rev. Biochem.**, [S. l.], p. 603–647, 2001.

GARIBALDI, Lucas A.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; WINFREE, Rachael; WESTPHA, Catrin; WILLIAMS, Neal; KLEIN, Alexandra M. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. **Science**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1126/science.1230200.

GARRIDO, Carmen; GURBUXANI, Sandeep; RAVAGNAN, Luigi; KROEMER, Guido. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 286, n. 3, p. 433–442, 2001. DOI: 10.1006/bbrc.2001.5427.

GARRIDO, Paula Melisa; ANTÚNEZ, Karina; MARTÍN, Mariana; PORRINI, Martín Pablo; ZUNINO, Pablo; EGUARAS, Martín Javier. Immune-related gene expression in nurse honey bees (*Apis mellifera*) exposed to synthetic acaricides. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 113–119, 2013. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2012.10.019.

GÄTSCHENBERGER, Heike; AZZAMI, Klara; TAUTZ, Jürgen; BEIER, Hildburg. Antibacterial Immune Competence of Honey Bees (*Apis mellifera*) Is Adapted to Different Life Stages and Environmental Risks. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 6, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0066415.

GAZZIERO, D. L. .. MISTURAS DE AGROTÓXICOS EM TANQUE NAS PROPRIEDADES AGRÍCOLAS DO BRASIL. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 83–92, 2015.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. a. DOI: 10.1093/jee/tov093.

GIANNINI, Tereza Cristina; CORDEIRO, Guaraci Duran; FREITAS, Breno M.; SARAIVA, Antonio Mauro; IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lúcia. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. b.

GIESY, John P. ...; DOBSON, Stuart;; SOLOMON, Keith R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, [S. l.], p. 35–120, 2000.

GILLESPIE, P; JEREMY; KANOST, Michael R. ...; TRENCZEK, Tina. Biological mediators of insect immunity. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 611–643, 1997.

GONG, Youhui; DIAO, Qingyun. Current knowledge of detoxification mechanisms of xenobiotic in honey bees. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 0–1, 2017. DOI: 10.1007/s10646-016-1742-7.

- GONZÁLEZ-SANTOYO, Isaac; CÓRDOBA-AGUILAR, Alex. Phenoloxidase: A key component of the insect immune system. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, [S. l.], v. 142, n. 1, p. 1–16, 2012. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x.
- GOUGH, H. ..; MCINDOE, E. ..; LEWIS, G. .. The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 22, p. 119–125, 1994.
- GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology** 2013, [S. l.], v. 50, p. 977–987, 2013. a. DOI: 10.1111/1365-2664.12111.
- GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 977–987, 2013. b.
- GREGORY, Casey L.; FELL, Richard D.; BELDEN, Lisa K.; WALKE, Jenifer B. Classic Hoarding Cages Increase Gut Bacterial Abundance and Reduce the Individual Immune Response of Honey Bee (*Apis mellifera*) Workers. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 1–5, 2022. DOI: 10.1093/jisesa/ieac016.
- GRZELAK, Krystyna; KUMARAN, A. Krishna. Developmental changes in the larval fat body during metamorphosis in *Galleria mellonella*. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 445–453, 1986. DOI: 10.1016/0022-1910(86)90005-3.
- GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. **CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - Gramado**, [S. l.], v. 29, 2014.
- HAN, Peng; NIU, Chang Ying; LEI, Chao Liang; CUI, Jin Jie; DESNEUX, Nicolas. Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera* L. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 1612–1619, 2010. DOI: 10.1007/s10646-010-0546-4.
- HAVARD, Tiphaine; LAURENT, Marion; CHAUZAT, Marie-pierre. Hymenoptera : Apidae): Some Guidance for Research Emerge from a Meta-Analysis. **Diversity**, [S. l.], v. 12, n. 7, p. 1–13, 2020. DOI: doi:10.3390/d12010007.
- HEARD, Tim A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 44, n. June, p. 183–206, 1999. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.183.
- HELMBRECHT, K.; ZEISE, E.; RENSING, L. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: A review. **Cell Proliferation**, [S. l.], v. 33, n. 6, p. 341–365, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-2184.2000.00189.x.
- HELMER, S. H.; KERBAOL, A.; ARAS, P.; JUMARIE, C., &. BOILY, M. Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 22, n. 11, p. 8010–8021, 2015.
- HENRY, Mickaël; BÉGUIN, Maxime; REQUIER, Fabrice; ROLLIN, Oriane; ODOUX, Jean François; AUPINEL, Pierrick; APTEL, Jean; TCHAMITCHIAN, Sylvie; DECOURTYE, Axel. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, [S. l.], v. 336, n. 6079, p. 348–350, 2012. DOI: 10.1126/science.1215039.
- HERBERT, Lucila T.; VÁZQUEZ, Diego E.; ARENAS, Andrés; FARINA, Walter M. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **The Company of Biologists Ltd | The Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, p. 3457–3464, 2014. DOI: 10.1242/jeb.109520.
- IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios**

de comercialização de agrotóxicos. 2016.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores - Parecer técnico nº sei ibama 6220406. **IMinistério do Meio Ambiente**, [S. l.], p. 1–298, 2019.

ILYASOV, Rustem A.; GAIFULLINA, Louisa R.; TYKOVA, Elena S. ... Sal; SKRYAKOV, Aleksandr V. Po; NIKOLENKO, Alexei G. REVIEW OF THE EXPRESSION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE DEFENSIN IN HONEY BEES APIS MELLIFERA L. **Journal of Apicultural Science**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 115–124, 2012. DOI: 10.2478/v10289-012-0013-y.

IPBES, Intergovernmental Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. **Summary for policymakers of the assessment report on pollinators, pollination and food production Platform on Biodiversity and Ecosystem Services**. Bonn, Germany.

JACOB, Cynthia R. O.; SOARES, Hellen M.; NOCELLI, C. F.; MALASPINA, Osmar. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Pest Manag Sci**, [S. l.], v. 71, p. 114–122, 2015. DOI: 10.1002/ps.3776.

JAMES, R. R. ...; XU, J. Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. **Journal of invertebrate pathology**, [S. l.], v. 109, n. 2, p. 175–182, 2012.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; JUNQUEIRA, LMMS. Técnicas básicas de citologia e histologia. **São Paulo: Santos**, [S. l.], p. 124, 1983.

KAIRO, Guillaume et al. Assessment of the toxic effect of pesticides on honey bee drone fertility using laboratory and semifield approaches: A case study of fipronil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 36, n. 9, p. 2345–2351, 2017. DOI: 10.1002/etc.3773.

KAVANAGH, Kevin; REEVES, Emer P. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 101–112, 2004. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.09.002.

KEELEY, LARRY L. **Physiology and Biochemistry of the Fat Body**. [s.l.] : Pergamon Press Ltd., 1985. v. 2 DOI: 10.1016/b978-0-08-030804-3.50012-1.

KERR, W. E. **Biologia e manejo de meliponíneos**. 1996.

KERR, Warwick Estevam; BUENO, David. NATURAL CROSSING BETWEEN APIS MELLIFERA ADANSONII AND APIS MELLIFERA LIGUSTICA. **EVOLUTION**, [S. l.], v. 24, p. 145–148, 1970.

KLEIN, Alexandra-Maria; VAISSIÈRE, Bernard E.; CANE, James H.; STEFFAN-DEWENTER, Ingeborg; CUNNINGHAM, Saul A.; KREMEN, Claire; TSCHARNTKE, Teja. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **The Royal Society**, [S. l.], p. 303–313, 2007. DOI: 10.1098/rspb.2006.3721.

KORNER, Pius; SCHMID-HEMPEL, Paul. Correlates of parasite load in bumblebees in an Alpine habitat. **Entomological Science**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 151–160, 2005. DOI: 10.1111/j.1479-8298.2005.00113.x.

KRAUTZ, Robert; AREFIN, Badrul; THEOPOLD, Ulrich. Damage signals in the insect immune response. **Plant Science**, [S. l.], v. 5, p. 1–11, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00342.

KREGEL, K. C. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 92, p. 2177–2186, 2002.

KREMEN, Claire et al. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms : a conceptual framework for the effects of land-use change. **Ecology Letters**, [S. l.], v. 10, p. 299–314, 2007. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x.

- LA MORANDIN, ML Winston. Effects of novel pesticides on bumble bee (Hymenoptera: Apidae) colony health and foraging ability. **Environmental Entomology**, [S. l.], 2003.
- LAMBERT, Olivier et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons : Bees , honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. **Chemosphere**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 98–104, 2012. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.09.025.
- LAUGHTON, Alice M.; BOOTS, Michael; SIVA-JOTHY, Michael T. The ontogeny of immunity in the honey bee, *Apis mellifera* L. following an immune challenge. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 57, n. 7, p. 1023–1032, 2011. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2011.04.020.
- LAVINE, M. D.; STRAND, M. R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 32, p. 1295–1309, 2002.
- LAW, J. H.; WELLS, M. A. Insects as biochemical models. **The Journal of biological chemistry**, [S. l.], v. 264, n. 28, p. 16335–16338, 1989. DOI: 10.1016/s0021-9258(19)84707-5.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. &. COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4 ed ed. São Paulo: Savier, 2007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January 2021, p. 315–333, 2019. a. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, p. 315–333, 2019. b. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January, p. 315–333, 2019. c. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LIMA, L. C. F. Produtos fitossanitários: misturas em tanque. **Cascavel: Ocepar/Coodetec/Associação Nacional de Defesa Vegetal**, [S. l.], 1997.
- LINDQUIST, S. THE HEAT -SHOCK PROTEINS. **Annu. Rev. Genet.**, [S. l.], v. 22, p. 631–677, 1988.
- LIPOVŠEK, Saška; JANŽEKOVIČ, Franc; NOVAK, Tone. Ultrastructure of fat body cells and Malpighian tubule cells in overwintering *Scoliopteryx libatrix* (Noctuoidea). **Protoplasma**, [S. l.], v. 254, n. 6, p. 2189–2199, 2017. DOI: 10.1007/s00709-017-1110-3.
- LOCKE, M. The structure and development of the vacuolar system in the fat body of insects. **Insect ultrastructure. 2 ed. New York: Plenum Press**, [S. l.], p. 151–197, 1984.
- LÓPEZ-URIBE, Margarita M.; FITZGERALD, Andrea; SIMONE-FINSTROM, Michael. Inducible versus constitutive social immunity: Examining effects of colony infection on glucose oxidase and defensin-1 production in honeybees. **Royal Society Open Science**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 10–17, 2017. DOI: 10.1098/rsos.170224.
- LOVALLO, Naomi; COX-FOSTER;; L, Diana. Alteration in FAD–glucose dehydrogenase activity and hemocyte behavior contribute to initial disruption of *Manduca sexta* immune response to *Cotesia congregata* parasitoids. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1037–1048, 1999.
- LU, Kai; CHEN, Xia; LIU, Wenting; ZHOU, Qiang. Identification of a heat shock protein 90 gene involved in resistance to temperature stress in two wing-morphs of *Nilaparvata lugens* (Stål). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S. l.], v. 197, p. 1–8, 2016. DOI: 10.1016/J.CBPA.2016.02.019.
- LYCETT, G. C.; MCLAUGHLIN, L. A.; RANSON, H.; HEMINGWAY, J.; KAFATOS, F. C.; LOUKERIS, T. G.; PAINE, M. J. I. Anopheles gambiae P450 reductase is highly expressed in

- oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], p. 7, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2586.2006.00647.x.
- MAGGI, Matías et al. Honeybee health in South America. **Apidologie**, [S. l.], v. 47, n. 6, p. 835–854, 2016. DOI: 10.1007/s13592-016-0445-7.
- MALASPINA, Osmar; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Cell makers for ecotoxicological studies in target organs of bees. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, [S. l.], p. 2006, 2006.
- MANJON, Cristina et al. **Unravelling the Molecular Determinants of Bee Sensitivity to Neonicotinoid Insecticides** **Current Biology**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1016/j.cub.2018.02.045.
- MARIMOTO, R. I. ...; TISSIERES, A. ...; GEORGOPOULOUS, C. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press . 1994. **New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press**, [S. l.], 1994.
- MARTINS, Gustavo Ferreira; RAMALHO-ORTIGÃO, J. M. Oenocytes in insects. **Invertebrate Survival Journal**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 139–152, 2012.
- MASON, Rosemary. Immune Suppression by Neonicotinoid Insecticides at the Root of Global Wildlife Declines. **Journal of Environmental Immunology and Toxicology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 3, 2013. DOI: 10.7178/jeit.1.
- MATTSON, Mark P.; CALABRESE, Edward J. **Hormesis: A revolution in biology, toxicology and medicine**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-1-60761-495-1.
- MCKINSTRY, Mia; CHUNG, Charlie; TRUONG, Henry; JOHNSTON, Brittany A.; SNOW, Jonathan W. The heat shock response and humoral immune response are mutually antagonistic in honey bees. **Scientific Reports**, [S. l.], p. 1–14, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-09159-4.
- MDIC (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, Comércio Exterior e Serviços). **http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais_2020** MDIC, 2022 **<https://www.gov.br/produktividade-e-comercio-exterior/pt-br/assuntos/comercio-exterior/estatisticas/>**. 2022. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais_2020.
- MEUNIER, Joël. Social immunity and the evolution of group living in insects. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 370, n. 1669, p. 19–21, 2015. DOI: 10.1098/rstb.2014.0102.
- MEYER, T. N.; SILVA, A. L. Resposta celular ao estresse. **Rev Ass Med Brasil 1999**; [S. l.], p. 181–188, 1999.
- MOFFAT, Christopher; PACHECO, Joao Goncalves; SHARP, Sheila; SAMSON, Andrew J.; BOLLAN, Karen A.; HUANG, Jeffrey; BUCKLAND, Stephen T.; CONNOLLY, Christopher N. Chronic exposure to neonicotinoids increases neuronal vulnerability to mitochondrial dysfunction in the bumblebee (*Bombus terrestris*). **The FASEB Journal** •, [S. l.], 2019. DOI: 10.1096/fj.14-267179.
- MORITZ, Robin F. A.; DE MIRANDA, Joachim; FRIES, Ingemar; LE CONTE, Yves; NEUMANN, Peter; PAXTON, Robert J. Research strategies to improve honeybee health in Europe. **Apidologie**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 227–242, 2010. DOI: 10.1051/apido/2010010.
- MOSSER, Dick D.; CARON, Antoine W.; BOURGET, Lucie; DENIS-LAROSE, Claude; HP, Canada. Role of the Human Heat Shock Protein hsp70 in Protection against Stress-Induced Apoptosis. **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY**, [S. l.], v. 17, n. 9, p. 5317–5327, 1997.
- NAZIR, Aamir; SAXENA, Daya Krishna;; CHOWDHURI, Debapratim Kar. Induction of hsp70

in transgenic *Drosophila*: biomarker of exposure against phthalimide group of chemicals. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, [S. l.], v. 191621, n. 2, p. 218–225, 2003.

NAZZI, Francesco; LE CONTE, Yves. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 61, p. 417–432, 2016. DOI: 10.1146/annurev-ento-010715-023731.

NEGRI, Pedro; MAGGI, Matias D.; RAMIREZ, Leonor; DE FEUDIS, Leonardo; SZWARSKI, Nicolás; QUINTANA, Silvina; EGUARAS, Marin J.; LAMATTINA, Lorenzo. Abscisic acid enhances the immune response in *Apis mellifera* and contributes to the colony fitness. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 542–557, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0345-7.

NEGRI, Pedro; QUINTANA, Silvina; MAGGI, Matias; SZAWARSKI, Nicolas; LAMATTINA, Lorenzo; EGUARAS, Martin. *Apis mellifera* hemocytes generate increased amounts of nitric oxide in response to wounding/encapsulation. **Apidologie**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 610–617, 2014. DOI: 10.1007/s13592-014-0279-0.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. Uso de atrativos e repelentes na polinização dirigida. In: **ANAIS ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., Ribeirão Preto**, [S. l.], p. 21–27, 1998.

NOVAIS, Samuel M. A.; NUNES, Cassio A.; SANTOS, Natália B.; D'AMICO, Ana R.; FERNANDES, G. Wilson; QUESADA, Mauricio; BRAGA, Rodrigo F.; NEVES, Ana Carolina O. Effects of a Possible Pollinator Crisis on Food Crop Production in Brazil. **PloS one**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1–12, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0167292.

NUNES, Lorena Andrade; PINTO, Maria de Fátima Ferreira da Costa; CARNEIRO, Paulo; PEREIRA, Derval Gomes; WALDSCHMIDT, Ana Maria. GENETIC DIVERGENCE IN *Melipona scutellaris* LATREILLE (Hymenoptera: Apidae) ON THE BASIS OF MORPHOLOGIC CHARACTERS. **Biosci. J., Uberlândia**, [S. l.], v. 23, p. 1–9, 2007.

OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test t, n.214. **GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. Honeybees**, [S. l.], p. 7, 1998.

PAES DE OLIVEIRA, V. T. .; CRUZ-LANDIM, C. Size. Size of fat body trophocytes and the ovarian development in workers and queens of *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Sociobiology**, [S. l.], p. 701–709, 2003.

PETROS, AM; OLEJNICZAK, ET; FESIK, SW. Structural biology of the Bcl-2 family of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1644, n. 2–3, p. 84–93, 2004.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A. e; ALCÂNTARA NETO, F. INCOMPATIBILIDADE FÍSICA DE MISTURAS ENTRE HERBICIDAS E INSETICIDAS. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 449–457, 2012.

PETTIS, Jeffery S.; LICHTENBERG, Elinor M.; ANDREE, Michael; STITZINGER, Jennie; ROSE, Robyn; VANENGELSDORP, Dennis. Crop Pollination Exposes Honey Bees to Pesticides Which Alters Their Susceptibility to the Gut Pathogen *Nosema ceranae*. **PloS One**, [S. l.], v. 8, n. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0070182.

PILLING, Edward D. .; JEPSON, Paul C. Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). **Pesticide Science**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 293–297, 1993.

PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. D. S.; CHAM, K. O.; VIANA-SILVA, F. E. C.; BORGES, L. O.; TONELLI, C. A. M.; CIONE, A. P. Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos. **Brasília: Ibama**, [S. l.], 2018.

POLETTAA, G. L.; LARRIERA, A.; KLEINSORGE, E.; MUDRY, M. D. Mutation

Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. **Mutation Research**, [S. l.], p. 95–102, 2009. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.10.007.

POTTS, Simon G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature Publishing Group**, [S. l.], v. 540, n. 7632, p. 220–229, 2016. DOI: 10.1038/nature20588.

POTTS, Simon G.; BIESMEIJER, Jacobus C.; KREMEN, Claire; NEUMANN, Peter; SCHWEIGER, Oliver; KUNIN, William E. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010. DOI: 10.1016/j.tree.2010.01.007.

POWNER, Michael B.; SALT, Thomas E.; HOGG, Chris; JEFFERY, Glen. Improving Mitochondrial Function Protects Bumblebees from Neonicotinoid Pesticides. **PloS one**, [S. l.], p. 1–11, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0166531.

PRADO, Fernanda Scavassa Ribeiro. **Análise cromatográfica da abamectina e do difenoconazol em amostras de tecido de abelhas da espécie *Melipona scutellaris* e avaliação de efeitos de biomarcadores bioquímicos**. 2020. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2020.

QIAO, Li; WU, Jun X.; QIN, Dao Z.; LIU, Xiang C.; LU, Zhao C.; LV, Li Z.; PAN, Zi L.; CHEN, Hao; LI, Guang W. Gene expression profiles of heat shock proteins 70 and 90 from *Empoasca onukii* (Hemiptera: Cicadellidae) in response to temperature stress. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015. DOI: 10.1093/jisesa/iev030.

REEVES, Alison M.; O'NEAL, Scott T.; FELL, Richard D.; BREWSTER, Carlyle C.; ANDERSON, Troy D. In-hive acaricides alter biochemical and morphological indicators of honey bee nutrition, immunity, and development. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 1–6, 2018. DOI: 10.1093/jisesa/iey086.

RICKETTS, Taylor H. et al. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? **Ecology Letters**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 499–515, 2008. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x.

ROBERT, B.; JR, Bowers; GEORGE, N.; ALKALINE, Solomon. **Alkaline phosphatase**. [s.l.] : Springer Science & Business Media, 2013.

RÖHL, Alina; ROHRBERG, Julia;; BUCHNER, Johannes. The chaperone Hsp90: changing partners for demanding clients. **Trends in biochemical sciences**, [S. l.], v. 138, n. 5, p. 253–262, 2013.

ROMA, Gislaine Cristina; BUENO, Odair Corrêa; CAMARGO-MATHIAS, Maria Izabel. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: A review. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 395–401, 2010. DOI: 10.1016/j.micron.2009.12.007.

ROMER, Franz; EMMERICH, Hans;; NOWOCK, Joachim. Biosynthesis of ecdysones in isolated prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor* in vitro. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 20, n. 10, p. 1975–1987, 1974.

RONDEAU, Gary; SÁNCHEZ-BAYO, Francisco; TENNEKES, Henk A.; DECOURTYE, Axel; RAMÍREZ-ROMERO, Ricardo; DESNEUX, Nicolas. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 4, p. 1–8, 2014. DOI: 10.1038/srep05566.

ROSSI, Caroline de Almeida; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOLOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Brain Morphophysiology of Africanized Bee *Apis mellifera* Exposed to Sublethal Doses of Imidacloprid. **Arch Environ Contam Toxicol**, [S. l.], p. 234–243, 2013. DOI: 10.1007/s00244-013-9897-1.

RUBIO, Fernando; GUO, Emily; KAMP, Lisa. Survey of Glyphosate Residues in Honey, Corn and Soy Products. **Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2014. DOI:

10.4172/2161-0525.1000249.

SCHMID-HEMPEL, Paul. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 50, p. 529, 2005.

SCHMID, Martin R.; BROCKMANN, Axel; PIRK, Christian W. W.; STANLEY, David W.; TAUTZ, Jürgen. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 439–444, 2008. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.

SGOLASTRA, Fabio et al. Synergistic interactions between pesticides in three bee species. **Pest Management Science**, [S. l.], p. doi: 10.1002/ps.4449, 2016. DOI: 10.1002/ps.4449.

SHORTER, James. The Mammalian Disaggregase Machinery: Hsp110 Synergizes with Hsp70 and Hsp40 to Catalyze Protein Disaggregation and Reactivation in a Cell-Free System. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 10, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0026319.

SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; GREGORC, Ales; MORAES, Regina L. M. S. In situ localization of heat-shock proteins and cell death labelling in the salivary gland of acaricide-treated honeybee larvae *. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, p. 507–516, 2006. DOI: 10.1051/apido.

SILVA, Mariana Barrotti Da; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira; SOARES, Hellen Maria; MALASPINA, Osmar. Efeitos do imidacloprido sobre o comportamento das abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae). **Ciência, Tecnologia e Ambiente**, [S. l.], 2016.

SIVA-JOTHY, Michael T.; MORET, Yannick; ROLFF, Jens. **Insect Immunity: An Evolutionary Ecology Perspective**. [s.l.: s.n.], v. 32 DOI: 10.1016/S0065-2806(05)32001-7.

SIVITER, Harry; BAILES, Emily J.; MARTIN, Callum D.; OLIVER, Thomas R.; KORICHEVA, Julia; LEADBEATER, Ellouise; BROWN, Mark J. F. Agrochemicals, but not other stressors, interact synergistically to increase bee mortality. [S. l.], [s.d.].

SLAA, Ester Judith; SÁNCHEZ CHAVES, Luis Alejandro; MALAGODI-BRAGA, Katia Sampaio; HOFSTEDDE, Frouke Elisabeth. Stingless bees in applied pollination: Practice and perspectives. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 293–315, 2006. DOI: 10.1051/apido:2006022.

SOARES-LIMA, Hellen Maria. **EFEITOS COMBINADOS DE *Nosema ceranae* E DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* AFRICANIZADA**. 2017. [S. l.], 2017.

SOLOMON, Keith; THOMPSON, Dean. Ecological Risk Assessment for Aquatic Organisms from Over-Water Uses of Glyphosate FROM OVER-WATER USES OF GLYPHOSATE. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, [S. l.], v. 7404, 2003. DOI: 10.1080/10937400306468.

STEINMANN, Nadja; CORONA, Miguel; NEUMANN, Peter; DAINAT, Benjamin. Overwintering is associated with reduced expression of immune genes and higher susceptibility to virus infection in honey bees. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 1–18, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0129956.

SUCHAIL, Séverine; DEBRAUWER, Laurent; BELZUNCES, Luc P. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 291–296, 2004. DOI: 10.1002/ps.772.

SUN, S. M.; ZHU, J.; GE, X. P.; ZHANG, C. F.; MIAO, L. H.; JIANG, X. J. Cloning and expression analysis of a heat shock protein 90 β isoform gene from the gills of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) subjected to nitrite stress. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 3036–3051, 2015. DOI: 10.4238/2015.April.10.14.

TAKEUCHI, Hideaki; PAUL, Rajib Kumar; MATSUZAKA, Emiko; KUBO, Takeo. EcR-A expression in the brain and ovary of the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Zoological Science**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 596–603, 2007. DOI: 10.2108/zsj.24.596.

TAVARES, Daiana Antonia; DUSSAUBAT, Claudia; KRETZSCHMAR, André; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; MALASPINA, Osmar; BÉRAIL, Géraldine; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 229, p. 386–393, 2017. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.05.092.

TAVARES, Daiana Antonia; ROAT, Thaisa Cristina; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine Cristina Mathias; MALASPINA, Osmar. Chemosphere In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, [S. l.], v. 135, p. 370–378, 2015. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.090.

TOLEDO, R. J. ...; GUILLÉN, S. D. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**, [S. l.], v. 30, p. 408–413, 2014.

TOMIZAWA, Motohiro; CASIDA, John E. S ELECTIVE T OXICITY OF N EONICOTINOIDS A TTRIBUTABLE TO S PECIFICITY OF I NSECT AND M AMMALIAN N ICOTINIC R ECEPTORS. **Annu. Rev. Entomol.**, [S. l.], p. 339–364, 2003. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731.

TOMIZAWA, Motohiro; OTSUKA, Hiroko; MIYAMOTO, Toru; YAMAMOTO, Izuru; ELDEFRAWI, Mohyee E. Pharmacological Characteristics of Insect Nicotinic Acetylcholine Receptor with Its Ion Channel and the Comparison of the Effect of Nicotinoids and Neonicotinoids. **Journal of Pesticide Science**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 57–64, 1995. DOI: 10.1584/jpestics.20.57.

TONI, Luís R. M.; SANTANA, Henrique De. Divulgação. [S. l.], v. 29, n. 4, p. 829–833, 2006.

TORNISIELO, Valdemar Luiz; BOTELHO, Rafael Grossi; ALVES, Paulo Alexandre de Toledo; BONFLEUR, Eloana Janice; MONTEIRO, Sergio Henrique. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. **Intech**, [S. l.], p. 17, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/55948>.

TOSI, S.; SFEIR, C.; CARNESECCHI, E., &. CHAUZAT, M. P. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. **Science of The Total Environment**, [S. l.], p. 156857, 2022.

TOSI, Simone; COSTA, Cecilia; VESCO, Umberto; QUAGLIA, Giancarlo; GUIDO, Giovanni. A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 615, p. 208–218, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.226.

TSUTSUMI, Shinji; NECKERS, Len. Extracellular heat shock protein 90: A role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. **Cancer Science**, [S. l.], v. 98, n. 10, p. 1536–1539, 2007. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00561.x.

VABULAS, R. Martin; RAYCHAUDHURI, Swasti; HAYER-HARTL, Manajit; HARTL, F. Ulrich. Protein folding in the cytoplasm and the heat shock response. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, [S. l.], v. 2, n. 12, p. 19, 2010. DOI: 10.1101/cshperspect.a004390.

VANDERPLANCK, Maryse et al. Monitoring bee health in European agroecosystems using wing morphology and fat bodies. **One Ecosystem**, [S. l.], v. 6, p. 16, 2021. DOI: 10.3897/oneeco.6.e63653.

VESTERLUND, S. R.; LILLEY, T. M.; VAN OOIK, T.; SORVARI, J. The effect of overwintering temperature on the body energy reserves and phenoloxidase activity of bumblebee *Bombus lucorum* queens. **Insectes Sociaux**, [S. l.], v. 61, n. 3, p. 265–272, 2014. DOI:

10.1007/s00040-014-0351-9.

VIDAU, Cyril et al. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by nosema ceranae. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 6, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0021550.

VLAHOVIĆ, M.; LAZAREVIĆ, J.; PERIĆ-MATARUGA, V.; ILIJIN, L., &; MRDAKOVIĆ, M. Plastic responses of larval mass and alkaline phosphatase to cadmium in the gypsy moth larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 72, n. 4, p. 1148–1155, 2009.

WHITE, Jonathan W.; SUBERS, Mary H.; SCHEPARTZ, Abner I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. **BBA - Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 73, n. 1, p. 57–70, 1963. DOI: 10.1016/0006-3002(63)90359-7.

WILLIAMSON, Sally M.; WRIGHT, Geraldine A. Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 216, n. 10, p. 1799–1807, 2013. DOI: 10.1242/JEB.083931.

WILSON-RICH, Noah; SPIVAK, Marla; FEFFERMAN, Nina H.; STARKS, Philip T. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 54, n. October, p. 405–423, 2009. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093301.

WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, n. December 2016, p. 96–103, 2017. a. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.

WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, p. 96–103, 2017. b. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.

WOLOWSKI, Marina et al. **Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.4322/978-85-60064-83-0.

YOKOYAMA, Naoaki; HIRATA, Mineo; OHTSUKA, Kenzo; NISHIYAMA, Yukihiro; KEN, Fujii; FUJITA, Masatoshi; KUZUSHIMA, Kiyotaka; KIYONO, Tohru; TSURUMI, Tatsuya. Co-expression of human chaperone Hsp70 and Hsdj or Hsp40 co-factor increases solubility of overexpressed target proteins in insect cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1493, p. 119–124, 2000.

ZHANG, Wenjun; JIANG, Fubin; OU, Jianfeng. Global pesticide consumption and pollution : with China as a focus. **International Academy of Ecology and Environmental Sciences**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 125–144, 2011.

ZHU, Yu Cheng; YAO, Jianxiu; ADAMCZYK, John; LUTTRELL, Randall. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). **PLoS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. 1–19, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0178421.

5. Capítulo 2

O artigo referente a este capítulo será submetido para publicação na Agriculture, Ecosystems and Environment.

Mistura de inseticida e herbicida em concentrações subletais induz ao estresse celular no corpo gorduroso de abelhas

Tatiane Caroline Grella¹, Pâmela Décio², Osmar Malaspina¹, Roberta Cornélio Ferreira
Nocelli³.

¹ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Campus de Rio
Claro.

² Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Sorocaba.

³ Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Araras.

5.1 Resumo

As abelhas contribuem para a reprodução cruzada de plantas, aumentando a qualidade de frutos e sementes. Entre as espécies sociais temos *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata*. Durante a polinização, as abelhas podem ser expostas a agrotóxicos, como o inseticida imidacloprido e o herbicida glifosato, isoladamente e em combinação. A exposição pode causar danos em nível celular, como o aumento da proteína de choque térmico (HSP), entre as quais temos as famílias HSP70 e HSP90. As HSPs podem ser usadas como biomarcadores para monitorar as respostas celulares e vários estímulos ambientais. A exposição aos agrotóxicos também pode causar a morte celular, a qual é possível analisar utilizando técnicas que marcam a quebra de DNA durante o processo de morte (Método de Tunel). Sendo o corpo gorduroso um tecido fundamental para a homeostase e desintoxicação foram aplicadas a técnica de imunomarcagem das HSP70, HSP90 e o método de Tunel para detecção de morte celular em abelhas *A.mellifera* e *M. quadrifasciata* expostas a concentrações subletais do inseticida imidacloprido e do herbicida glifosato, isolados e combinados. As abelhas foram coletadas e alimentadas com soluções de sacarose contendo 0,0075ng imidacloprido/ μ L, 0,0025ng glifosato/ μ L, a mistura dos dois agrotóxicos nessas concentrações, além do grupo controle. Após 48 horas, 15 abelhas de cada grupo foram anestesiadas e dissecadas para coleta do corpo gorduroso parietal. Em seguida, o material foi submetido as técnicas propostas, passou por um protocolo para análise em microscópio confocal e os resultados foram analisados usando o programa Rstudios. A partir dos resultados obtidos, observamos que dentre os grupos analisados, o grupo exposto à mistura foi o que apresentou a maior expressão de HSP70 para *A. mellifera* e o menor para *M. quadrifasciata*. Quanto à HSP90, observamos que o grupo exposto ao glifosato apresentou maior expressão proteica em *M. quadrifasciata* e a menor para *A. mellifera*. Já em relação ao método de Tunel não observamos marcação de morte celular em nenhum grupo analisado. O aumento da expressão de HSPs pode ser um indicativo de uma resposta de proteção do corpo gorduroso e conseqüentemente do sistema imune inato. Estudos mostram que estressores ambientais, como agrotóxicos, podem afetar a capacidade imunológica das abelhas. A partir dos resultados podemos concluir que a exposição ao imidacloprido e ao glifosato causou um aumento na expressão de HSP70 e HSP90 e colocou em risco o sistema imunológico das abelhas, porém não levou as células a morte.

Palavras-chave: *Apis mellifera*; *Melipona quadrifasciata*; HSP; morte celular

5.2 Introdução

No Brasil, grande parte da produção agrícola depende da polinização pelas abelhas (Giannini et al. 2015a, b), pois elas contribuem para a reprodução cruzada das plantas, aumentando a qualidade dos frutos e das sementes (RICKETTS et al., 2008; DEVKOTA; DHAKAL; THAPA, 2016). Durante o processo de polinização, as abelhas são expostas a diversos agrotóxicos, os quais comprometem as funções básicas dos indivíduos e da colônia, como forrageamento, sistema imune, reprodução, memória, comportamento, entre outros (TOSI et al., 2018). O uso exacerbado e indiscriminado de agrotóxicos está afetando diversas espécies de abelhas.

Dentre essas espécies, temos *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), uma espécie exótica com um grande número de indivíduos por colônia e hábito generalista (FREE, 1980) e *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae), uma espécie nativa, com menor número de indivíduos por colônia e capaz de realizar a polinização por vibração (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2008). Ambas as espécies são importantes polinizadores de culturas agrícolas de importância econômica. Durante o forrageamento nestas áreas podem entrar em contato com diversos agrotóxicos como o inseticida imidacloprido e o herbicida glifosato, de forma isolada ou simultânea.

O inseticida imidacloprido pertence a classe dos neonicotinoides, é sistêmico e tem a capacidade de translocar pela planta (CASIDA; DURKIN, 2013; GOULSON, 2013b). O herbicida glifosato é seletivo, sistêmico e pós-emergente (ZHANG; JIANG; OU, 2011). De acordo com Faita e colaboradores (2018) a presença de glifosato no alimento pode causar danos celulares, alteração no comportamento e redução na população. Em campo, o uso desses agrotóxicos não ocorre apenas de forma isolada, mas também de forma combinada (GUIMARÃES, 2014), o que pode gerar diversos efeitos, como os aditivos, antagônicos e sinérgicos. Em estudos realizados, Petter e colaboradores (2012), constataram que algumas misturas de inseticidas e herbicidas não são propícias para a realização de misturas, como o glifosato misturado com o tiametoxam, um inseticida pertencente a mesma classe do imidacloprido.

Quando as abelhas são expostas a esses compostos de forma isolada ou combinada, diversos danos a nível celular, podem ser causados, como aumento da proteína de choque térmico (HSP) (MEYER; SILVA, 1999) e até morte celular. Diversas famílias de HSP são reconhecidas, de acordo com a massa molecular, a sequência de aminoácidos e a função de cada uma delas (BASHA; O'NEILL; VIERLING, 2012; ARRIGO, 2013). As proteínas de choque térmico desempenham diversas funções, dentre

as quais se destaca o dobramento de proteínas, a manutenção da síntese de proteínas, sinalização celular, transcrição e metabolismo (CLARE; SAIBIL, 2013; RÖHL; ROHRBERG; BUCHNER, 2013). Quando algum fator estressor altera uma proteína, a HSP se liga a essa proteína e auxilia no redobramento da mesma, garantindo a homeostase das proteínas intracelulares (SHORTER, 2011; CLARE; SAIBIL, 2013).

Dentre as famílias de HSPs, a HSP70 é a maior delas, contém muitas isoformas diferentes e possuem função antiapoptótica (EVGEN'EV; GARBUZ; ZATSEPINA, 2014), uma vez que seu aumento é observado para prevenir danos celulares, como constatou Alqarni e colaboradores (2019) quando analisaram a expressão de HSPs em abelhas forrageiras após um estresse térmico e constataram que HSP70 é uma das primeiras proteínas de choque térmico a ter um aumento na sua expressão. Outra família de HSPs é a HSP90 que compõem a classe de proteínas de choque térmico mais abundante e melhor conservadas evolutivamente (QIAO et al., 2015; SUN et al., 2015; LU et al., 2016). Elas podem atuar em diversos tecidos, mas ainda não tem sua função pré ou pós apoptótica bem definida (MALASPINA; SILVA-ZACARIN, 2006).

As HSPs podem ser usadas como biomarcadores para monitorarmos as respostas celulares a diversos estímulos ambientais (NAZIR; SAXENA; CHOWDHURI, 2003). Além das HSPs uma forma de analisar os efeitos dos agrotóxicos nas células das abelhas é por meio da técnica de TUNEL (*Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling*), que constata a fragmentação de DNA através da extremidade 3'OH que fica exposta e passível de marcação após o processo de morte celular se iniciar (MALASPINA; SILVA-ZACARIN, 2006; TAVARES et al., 2015).

Existem estudos que realizaram essas três técnicas em diversos órgãos, como intestino, túbulo de Malpighi e cérebro, mas o presente trabalho é o primeiro a realizar essas técnicas com o corpo gorduroso parietal das abelhas, o que fundamental para o entendimento dos efeitos dos agrotóxicos, visto que o corpo gorduroso é fundamental para a homeostase do organismo, pois participa de diversas funções, como produção de proteínas da hemolinfa (LAW; WELLS, 1989), reserva de energia, produção de peptídeos (FERRANDON et al., 2007), desintoxicação do organismo entre outras (ARRESE; SOULAGES, 2010). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo analisar os efeitos de concentrações subletais do inseticida imidacloprido, e do herbicida glifosato isolados e combinados nas células do tecido gorduroso parietal de *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* por meio da análise dos biomarcadores HSP70, HSP90 e da técnica de TUNEL.

5.3 Material e método

As etapas de coleta do material biológico e exposição aos agrotóxicos foram descritas anteriormente.

5.3.1 Microscopia confocal

Para a realização das técnicas para a detecção de HSP70, HSP90 e método de Tunel foram utilizadas 60 abelhas para cada técnica no total, sendo 15 abelhas para cada um dos 4 grupos experimentais (controle, imidacloprido, glifosato e mistura), que correspondem a 5 abelhas de cada colônia (triplicata). As abelhas foram anestesiadas em freezer a -4°C , por cerca de 3 minutos e em seguida, o corpo gorduroso parietal foi dissecado e fixado em paraformaldeído 4% tamponado por 4 horas em temperatura ambiente. Em seguida foi colocado tampão em PBS (Phosphate Buffered Saline), pH 7,4 e 0,1 M, por 24 horas e, na sequência, incluído em agarose Low Melting (ANRESCO) do tipo II. Os blocos gerados no processo de inclusão foram seccionados com $100\mu\text{m}$ de espessura através de um Vibrátomo (Leica), e as seções colocadas em lâminas Starfrost (Knittel Glass). Para cada técnica foram analisadas 6 lâminas de cada grupo experimental, que correspondem a 6 indivíduos.

5.3.2 Detecção de HSP70 e HSP90

Tanto para imunomarcação da HSP70 quanto da HSP90, os procedimentos foram os mesmos. Os cortes foram permeabilizados com Triton X-100 a 0,5% por 10 minutos em temperatura ambiente. Depois passaram por 4 banhos de PBS de 2 minutos e foram incubadas em solução com o anticorpo primário anti-HSP (Invitrogen), diluído em PBS (1:100), e mantidos 1 hora a 37°C , em câmara úmida. As seções foram lavadas 3 vezes em PBS, incubadas com anticorpo secundário conjugado com Cy5 diluído em PBS (1:500) por 1 hora a temperatura ambiente e lavadas 3 vezes de 5 minutos cada com PBS. Para finalizar, as lâminas foram montadas com o meio de montagem Prolong® Gold Antifade (Molecular Probes). A técnica de HSP necessita de controle negativo, para verificar se a marcação não é uma fluorescência natural do órgão. A análise da marcação foi realizada por meio de um microscópio confocal de varredura a laser (Leica TCS-SP5) de acordo com os seguintes parâmetros Smart Gain: 1000; Smart Offset: 1%; Pinhole: 67,90; Line: 8; Frame: 2; Resolution: 1024×1024 ; Speed: 400Hz; Lazer: 10%; Number of steps: 6; Z-size: 30 μm ; Comprimento de onda: 633 e Objetiva 40x. Para a aquisição das imagens foi utilizado o software Leica Application Suite-AF.

5.3.3 Detecção de morte celular (Tunel)

As lâminas foram recobertas com solução de proteinase K (20 µg/mL em 10Mm Tris-HCl, pH 7,5) por 15 minutos, a temperatura ambiente e câmara úmida. Em seguida, lavadas em 4 banhos de PBS de 2 minutos cada. Posteriormente foi colocado 50 µL da solução de Tunel, realizada de acordo com o protocolo do Kit, AP “In Situ Cell Death Detection” (Roche). As lâminas foram então montadas com o meio de montagem Prolong Gold Antifade (Molecular Probes). A técnica de Tunel necessita de 2 controles, sendo um positivo, onde é adicionado 1 passo, no qual colocamos 20uL de DNase sobre os cortes, uma enzima que quebra o DNA, nesse caso a marcação ocorre obrigatoriamente. Já no controle negativo não adicionamos o fluoróforo para verificar se a marcação não é algo espontâneo do órgão.

A marcação foi visualizada por meio de um microscópio confocal de varredura a laser (Leica TCS-SP5) de acordo com os seguintes parâmetros Smart Gain: 900; Smart Offset: 1%; Pinhole: 67,90; Line: 8; Frame: 2; Resolution: 1024 x 1024; Speed: 400Hz; Lazer: 10%; Number of steps: 6; Z-size: 30 um; Comprimento de onda: 488 e Objetiva 40x. Para a aquisição das imagens foi utilizado o software Leica Application Suite-AF.

5.3.4 Análise estatística

A partir das aquisições das imagens das técnicas de HSP70, HSP90 e Tunel, o material foi analisado utilizando o software Leica Application Suite-AF, no qual foram estabelecidas 3 áreas, de mesmo tamanho para todas as micrografias, para realizar as medições de intensidade de luz (fluorescência) em relação a área escura, sem imunomarcação.

Os dados obtidos foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade. Os fatores espécies e tratamentos foram considerados como causas de variação isolados. Dessa forma, dado o atendimento dos pré-requisitos da Análise de Variância, foi testada a interação envolvendo os fatores espécie e tratamentos em esquema fatorial 2 x 4, ou seja, 2 espécies de abelhas versus 4 tratamentos. Para os dados em que ambos os requisitos foram atendidos, foram realizadas análises estatísticas comparativas usando o teste de Tukey, que está incluso no pacote Exp.Des.pt (Ferreira et al., 2021) do programa R (R Core Team, 2021). Quando os pré-requisitos da análise de variância não foram atendidos, foi aplicado o teste de Friedman, que está incluso no pacote “agricolae” (Mendiburu et al., 2019).

5.4 Resultados

De acordo com as análises realizadas podemos observar que, a espécie *A. mellifera* apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) da expressão de HSP70 entre todos os grupos experimentais (Tabela 1), sendo que a expressão de HSP70 foi maior no grupo exposto à mistura do inseticida imidacloprido e do herbicida glifosato enquanto a expressão mais baixa se deu no grupo controle, seguido do grupo exposto ao glifosato isolado.

Em *M. quadrifasciata*, podemos observar que (Tabela 1) não houve diferença estatística na expressão da proteína HSP70 entre o grupo controle e o grupo exposto ao glifosato. Porém, o grupo exposto ao imidacloprido apresentou a expressão mais elevada de HSP70, oposto do que ocorreu com o grupo exposto à mistura, o qual obteve a expressão mais baixa.

Ao compararmos as duas espécies (Tabela 1), foi possível observar que houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre elas para todos os grupos analisados, sendo que a espécie nativa apresentou maior expressão de HSP70 em todos os grupos, exceto para o grupo exposto a mistura.

Tabela 1: Expressão de HSP70 no corpo gorduroso parietal para as espécies *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações dentro das colunas) e maiúsculas (comparações dentro das linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

Grupos	Espécies	
	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Controle	15.58 \pm 1.42 aA	44.99 \pm 2.89 aB
Imidacloprido	36.60 \pm 1.65 bA	74.61 \pm 1.94 bB
Glifosato	26.92 \pm 1.68 cA	40.46 \pm 2.52 aB
Mistura	45.16 \pm 1.60 dA	22.28 \pm 1.22 cB

Quando analisamos os resultados obtidos através da técnica de HSP90 para a espécie *A. mellifera* (Tabela 2), observamos que não houve diferença estatística entre o controle e o grupo exposto ao imidacloprido, tão pouco entre esse e o grupo exposto à mistura. Já o grupo exposto ao glifosato diferiu estatisticamente de todos os demais grupos analisados.

Para a espécie *M. quadrifasciata*, não observamos diferença estatística na expressão da proteína HSP90 (Tabela 2) entre o controle e o grupo exposto a mistura e nem entre esse e o grupo exposto a imidacloprido. No entanto, o grupo exposto ao glifosato diferiu significativamente ($P < 0,05$) em relação aos demais grupos, assim como para a espécie exótica.

Quando comparamos as duas espécies analisadas (Tabela 2), podemos observar que não houve diferença estatística para o grupo controle, porém para os demais grupos ocorrem diferenças significativas, sendo que os valores da expressão de HSP90 foram maiores para *M. quadrifasciata* quando comparado à *A. mellifera* em todos os grupos (Figura 1).

Em relação a técnica de Tunel não obtivemos marcação em nenhum grupo analisado, conforme mostra a Figura 2.

Tabela 2: Expressão de HSP90 no corpo gorduroso parietal para as espécies *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações dentro das colunas) e maiúsculas (comparações dentro das linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

Grupos	Espécies	
	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Controle	41.84±4.4 aA	41.85±1.9 aA
Imidacloprido	37.71±3.5 abA	47.04±1.7 bB
Glifosato	28.15±1.7 cA	58.56±2.9 cB
Mistura	33.27±2.1 bA	44.70±1.5 abB

Figura 1: Corpo gorduroso parietal de *M. quadrifasciata* com aplicação da técnica de HSP70. Controle (A); Controle negativo (B); Grupo exposto ao imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) (C); Grupo exposto ao glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) (D) e Grupo exposto a mistura (E). As setas indicam as células com expressão de HSP70 no citoplasma e o círculo o local onde estão as células na imagem.

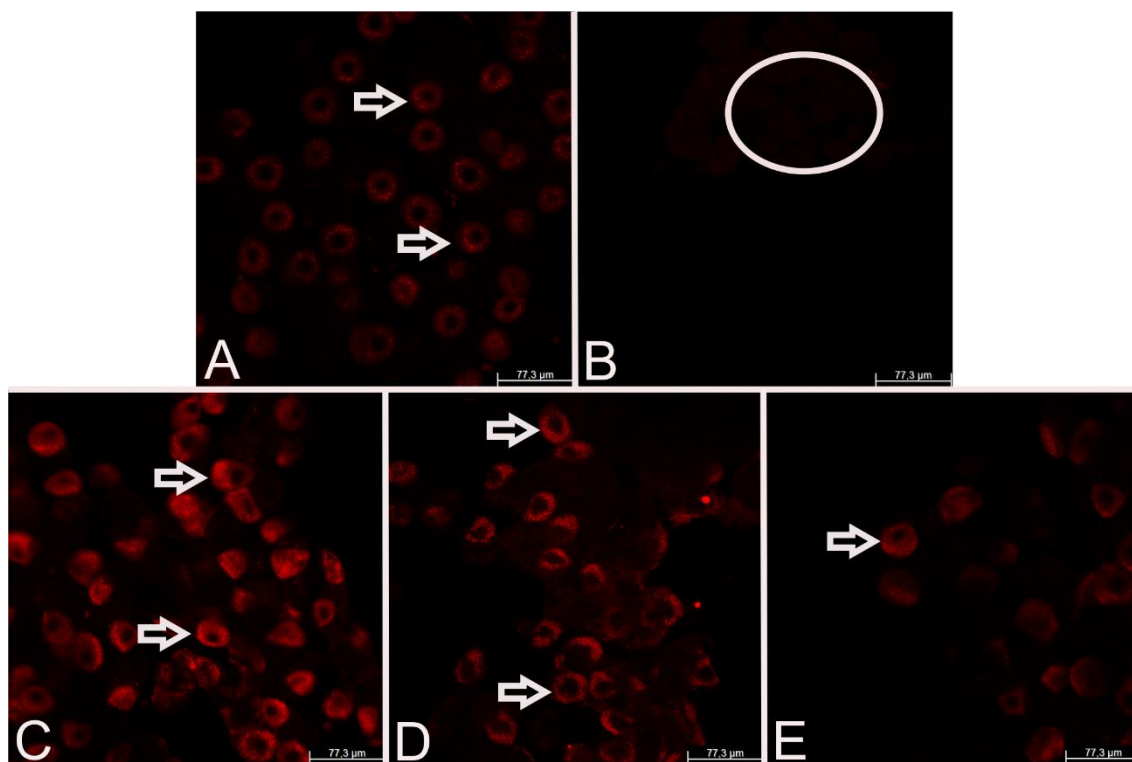
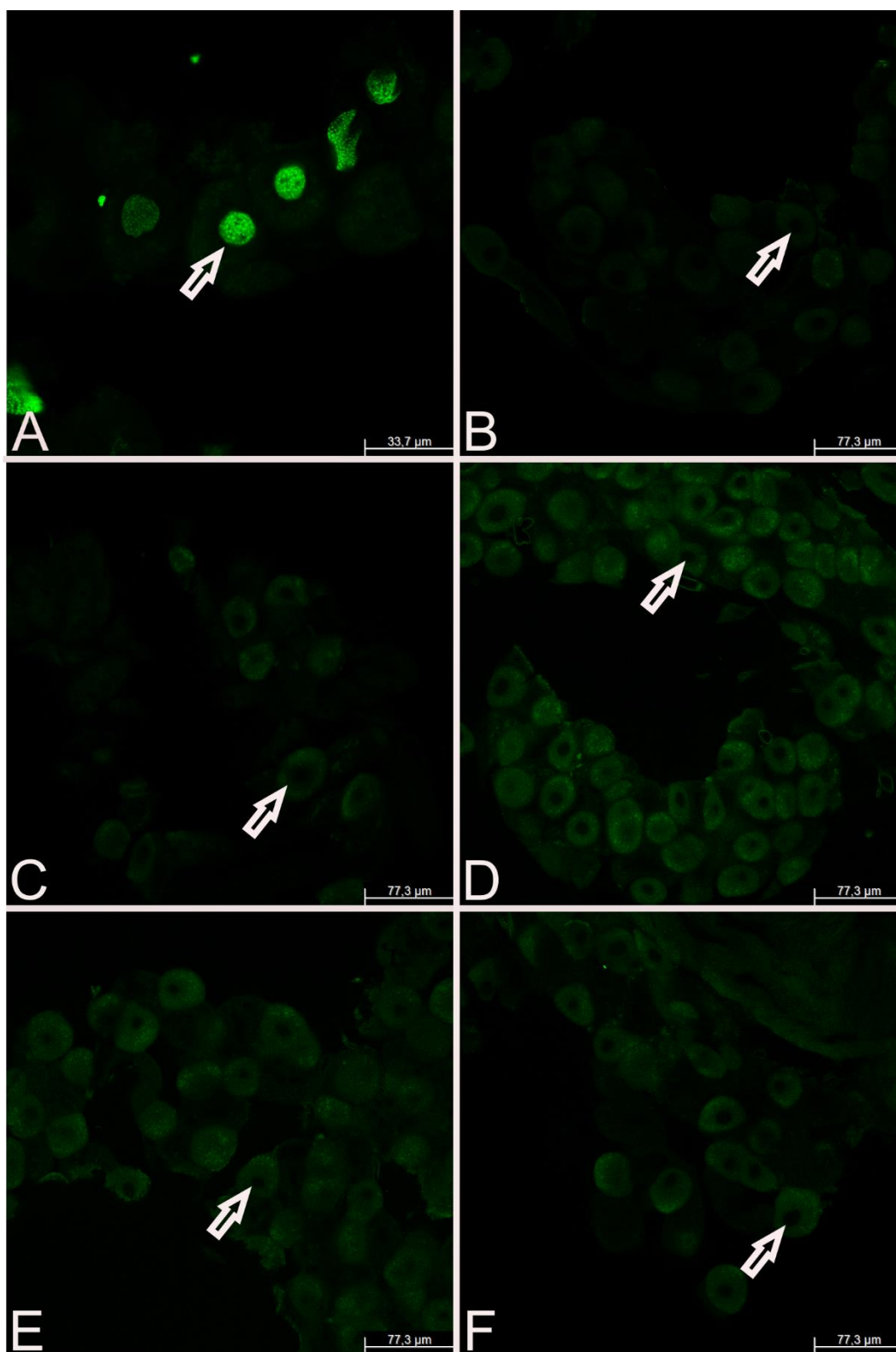


Figura 2: Corpo gorduroso parietal de *M. quadrifasciata* após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Técnica de Tunel. Zoom do controle positivo (A); Controle – com zoom (B); Controle negativo (C) Grupo exposto ao imidacloprido (D); Grupo exposto ao glifosato (E) e Grupo exposto a mistura (F). As setas indicam os núcleos.



5.5 Discussão

A proteostase se refere a homeostase da síntese, dobramento, função e degradação das proteínas do indivíduo (VABULAS et al., 2010; MCKINSTRY et al., 2017). Quando a proteostase não está em equilíbrio isso afeta diversas funções do organismo, como o sistema imune, o que pode ser analisado a partir da expressão de HSP70 e HSP90 nas células do corpo gorduroso parietal das abelhas.

A partir dos resultados obtidos podemos observar as diferenças estatísticas na expressão de HSP70 entre todos os grupos da espécie *A. mellifera*, o que não se repetiu para a espécie *M. quadrifasciata*, uma vez que não houve diferença entre o controle e o grupo exposto ao glifosato, porém houve diferença estatística entre os demais grupos expostos ao inseticida imidacloprido e ao herbicida glifosato isolados e combinados (EVGEN'EV; GARBUZ; ZATSEPINA, 2014).

Dessa forma, foi possível observar que para *A. mellifera* a expressão de HSP70 no grupo controle foi basal, uma vez que esse grupo não foi exposto a nenhum agrotóxico. Já para os demais grupos houve um aumento na expressão de HSP70 quando comparados ao controle, sendo que a expressão mais baixa foi observada no grupo exposto ao glifosato e a expressão mais alta no grupo exposto a mistura. A partir desses resultados podemos inferir que para *A. mellifera* a mistura do inseticida imidacloprido com o herbicida glifosato teve efeito sinérgico, pois aumentou a expressão de HSP70, o que pode ser um indício de resposta de proteção do corpo gorduroso parietal, e conseqüentemente do sistema imune inato do indivíduo, uma vez que o corpo gorduroso atua ativamente no sistema imune das abelhas. De acordo com Wojda (2017b) existem diversos trabalhos mostrando o papel fundamental das HSPs no sistema imune das abelhas, pois quando os indivíduos são expostos a estressores a expressão das proteínas de choque térmico aumenta (ALTINCICEK; KNORR; VILCINSKAS, 2008; ADAMO, 2010).

Para *M. quadrifasciata* observamos que a expressão de HSP70 para o grupo controle não diferiu estatisticamente do grupo exposto ao glifosato, o que pode ser indício de que para *M. quadrifasciata* a concentração de glifosato utilizada (0,0025 ng de glifosato/ μ L de dieta) ou o tempo de exposição não foi suficiente para causar danos às células do corpo gorduroso parietal, dessa forma a expressão de HSP70 se manteve basal, o que pode ser importante para o organismo, pois de acordo com Mattson e Calabrese (2010) um desequilíbrio leve na homeostase do organismo pode levá-lo a ficar mais tolerante a fatores estressantes de maior intensidade.

A espécie nativa (*M. quadrisfasciata*) exposta à concentração utilizada de imidacloprido (0,0075 ng de imidacloprido/ μ L de dieta) apresentaram uma alta considerável na expressão de HSP70 quando comparado aos demais grupos, o que pode indicar o efeito da molécula de neonicotinoide no sistema imune da espécie *M. quadrisfasciata*, pois de acordo com Brandt e colaboradores (2016) os estressores ambientais, como os agrotóxicos, também podem afetar a capacidade imunológica das abelhas (DI PRISCO et al., 2013). Em relação à mistura podemos observar que a expressão de HSP70 foi mais baixa quando comparada a todos os grupos, inclusive ao controle, a partir disso podemos concluir que para a espécie *M. quadrisfasciata* a combinação do imidacloprido com o glifosato tiveram ação antagônica.

Quando comparamos as duas espécies em relação a expressão de HSP70 nas células do corpo gorduroso parietal após 48 horas da exposição ao inseticida imidacloprido e ao herbicida glifosato isolados e combinados, podemos observar que a expressão de HSP70 no citoplasma das células é maior para *M. quadrisfasciata* quando comparada à *A. mellifera* para todos os grupos, inclusive o controle, o que pode ser uma evidência de que as células do corpo gorduroso de *M. quadrisfasciata* foram mais afetadas pela exposição aos agrotóxicos, o que pode comprometer o sistema imune dos indivíduos.

O corpo gorduroso é responsável pela síntese de imunoproteínas, o que o torna, de acordo com Hetru e colaboradores (1998) um tecido fundamental na imunocompetência das abelhas. O estudo do corpo gorduroso é um bom bioindicador celular da imunocompetência das abelhas, das condições do sistema imune e da resposta imune do organismo (KEELEY, 1985; KORNER; SCHMID-HEMPEL, 2005; ALAUX et al., 2010; VESTERLUND et al., 2014). Além da síntese de imunoproteínas, o corpo gorduroso é responsável por diversas outras funções, como homeostase, armazenamento de nutrientes em excesso, reserva energética e atividade metabólica (LAW; WELLS, 1989; ARRESE; SOULAGES, 2010; VANDERPLANCK et al., 2021).

Também podemos observar, a partir da comparação entre as duas espécies que a mistura do inseticida com o herbicida teve efeito oposto, uma vez que para *A. mellifera* o grupo exposto a mistura teve a maior expressão de HSP70 entre os demais grupos e para *M. quadrisfasciata* o grupo exposto à mistura apresentou a menor expressão de HSP70 quando comparado aos demais grupos. A partir desse resultado podemos concluir que as células do corpo gorduroso parietal de *A. mellifera* foi mais afetada pela mistura. Visto o papel fundamental do corpo gorduroso não apenas no sistema imune das abelhas, mas também no armazenamento e reserva de energia do organismo (ARRESE; SOULAGES,

2010), a expressão elevada de HSP70 no grupo exposto à mistura é de extrema importância para manter a homeostase do organismo.

Quando analisamos a expressão de HSP90 para *A. mellifera* podemos observar que a expressão não diferiu expressivamente entre os grupos, principalmente entre o grupo controle e o grupo exposto ao imidacloprido. Provavelmente, na concentração utilizada do inseticida imidacloprido a expressão basal de HSP70 tenha sido suficiente para evitar os danos às células do corpo gorduroso parietal. A expressão de HSP90 também não apresentou diferença estatística entre o grupo imidacloprido e mistura, indicando novamente que os danos foram contidos pela HSP70 que tem seu papel bem estabelecido de antioptótica (EVGEN'EV; GARBUZ; ZATSEPINA, 2014).

Para a espécie *M. quadrifasciata* observamos uma semelhança na expressão de HSP90 quando comparamos todos os grupos, uma vez que os valores da expressão de HSP90 são bastante próximos. Estatisticamente, podemos observar que a expressão do grupo mistura não apresentou diferença em relação ao grupo controle, o que indica que os agrotóxicos combinados nas concentrações e tempo utilizados podem não ser capazes de promover alterações fisiológicas nos indivíduos, pois de acordo com Feng e colaboradores (2010) a proteína HSP90 está envolvida em diversas funções fisiológicas. Dessa forma, quando não observamos diferenças estatísticas em relação ao controle, podemos concluir que não houve nenhum tipo de alteração causada pela mistura dos agrotóxicos.

Quando comparamos as duas espécies de abelhas em relação à expressão de HSP90 verificamos que o nível basal de ambas é muito próximo, uma vez que o grupo controle das duas espécies não apresentou diferença estatística. Enquanto os grupos expostos aos agrotóxicos isolados ou combinados apresentaram diferença estatística. A expressão de HSP90 foi mais elevada para *M. quadrifasciata* quando comparada a *A. mellifera*, o que pode indicar que os agrotóxicos podem ter causado diversos danos às células do corpo gorduroso parietal da espécie nativa, pois diversos trabalhos mostraram que a proteína HSP90 pode atuar em diversas vias quando o organismo é afetado por algum agente estressor (HELMBRECHT; ZEISE; RENSING, 2000; TSUTSUMI; NECKERS, 2007). Danos causados nas células do corpo gorduroso podem afetar diversas atividades do organismo, como produção de peptídeos e desintoxicação (FERRANDON et al., 2007; VANDERPLANCK et al., 2021), o que poderia comprometer diversas atividades não só do indivíduo, mas da colônia como um todo.

Para o teste de Tunel não observamos morte celular durante a análise das imagens capturadas, o que pode indicar que as proteínas de choque térmico HSP70 e 90 foram eficientes no processo de auxiliar o organismo a recuperar sua homeostase (BOWEN; MORGAN, 1993; GARRIDO et al., 2001) mesmo após a exposição a concentrações de imidacloprido e glifosato isolados e combinados, sem causar danos as células do corpo gorduroso parietal, como a quebra de DNA que pode levar a morte celular (PETROS; OLEJNICZAK; FESIK, 2004). O presente trabalho corrobora com dados da literatura, como Rossi e colaboradores (2013) que também observaram que as proteínas de choque térmico foram capazes de evitar a morte celular nos túbulos de Malpighi de forrageiras *A. mellifera* quando expostas ao imidacloprido.

Diversos trabalhos também analisaram os efeitos de agrotóxicos na expressão de proteínas de choque térmico, como Décio P. (2019) que analisou os efeitos do tiametoxam em corpos pedunculados de *A. mellifera* após 1, 3 e 5 dias após a exposição. Os autores constataram um aumento na expressão de HSP70 e HSP90, porém a ausência da marcação de morte celular pela técnica de Tunel o que, segundo as conclusões do referido trabalho, podem ser indícios de que as HSPs foram capazes de evitar a morte celular. Tavares e colaboradores (2015) analisaram larvas de *A. mellifera* expostas a subdoses de tiametoxam e constataram alterações morfológicas, como condensação cromatínica, eliminação de células entre outras, porém não observou diferença entre os grupos controle e os grupos expostos ao inseticida pela técnica de HSP90, mas observou marcação pela técnica de Tunel. Dessa forma os autores concluíram que a proteína de choque térmico não estaria protegendo o organismo com tanta eficiência, o que levou morte celular.

No presente trabalho, podemos concluir que a exposição das espécies de abelhas ao imidacloprido e glifosato causaram, de forma geral, aumento na expressão de HSP70 e HSP90, o que evitou a quebra no DNA das células do corpo gorduroso parietal e manteve o equilíbrio homeostático do organismo, garantindo que os processos realizados pelo corpo gorduroso, como armazenamento de excesso de nutrientes, participação na atividade metabólica, realização da síntese e utilização da reserva energética e participação na síntese de proteínas da hemolinfa, continuassem em equilíbrio.

5.6 Agradecimentos

Processo nº 2017/21097-3 e 2019/20109-3, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

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

5.7 Referências Bibliográficas

ABBO, Pendo M.; KAWASAKI, Joshua K.; HAMILTON, Michele; COOK, Steven C.; DEGRANDI-HOFFMAN, Gloria; LI, Wen Feng; LIU, Jie; CHEN, Yan Ping. Effects of Imidacloprid and Varroa destructor on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*. **Insect Science**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 467–477, 2017. DOI: 10.1111/1744-7917.12335.

ABDALLA, Fábio Camargo; DOMINGUES, Caio Eduardo da Costa. Hepato-Nephrotoxic System : A Novel Model of Biomarkers for Analysis of the Ecology of Stress in Environmental Biomonitoring. **Plos One**, [S. l.], p. 1–9, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0132349.

ABRAHAM, J.; BENHOTONS, G. S.; KRAMPAH, I.; TAGBA, J.; AMISSAH, C., &; ABRAHAM, J. D. Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. **Entomologia experimentalis et applicata**, [S. l.], v. 166, n. 8, p. 695–702, 2018.

ADAMO, S. A. Why should an immune response activate the stress response? Insights from the insects (the cricket *Gryllus texensis*). **Brain, Behavior, and Immunity**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 194–200, 2010. DOI: 10.1016/j.bbi.2009.08.003.

AENDA., ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS –. Mistura em tanque. **Caderno AENDA**, [S. l.], v. 1, p. 1–11, 2011.

ALAUX, Cédric et al. Interactions between Nosema microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 774–782, 2010. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.

ALAUX, Cédric; CRAUSER, Didier; PIOZ, Maryline; SAULNIER, Cyril; LE CONTE, Yves. Parasitic and immune modulation of flight activity in honey bees tracked with optical counters. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, n. 19, p. 3416–3424, 2014. DOI: 10.1242/jeb.105783.

ALMASRI, Hanine et al. Physiological effects of the interaction between *Nosema ceranae* and sequential and overlapping exposure to glyphosate and difenoconazole in the honey bee *Apis mellifera*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 217, n. October 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112258.

ALQARNI, Abdulaziz S.; ALI, Hussain; IQBAL, Javaid; OWAYSS, Ayman A.; SMITH, Brian H. Expression of heat shock proteins in adult honey bee (*Apis mellifera* L.) workers under hot-arid subtropical ecosystems. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 26, n. 7, p. 1372–1376, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.08.017.

ALTINCICEK, Boran; KNORR, Eileen; VILCINSKAS, Andreas. Beetle immunity: Identification of immune-inducible genes from the model insect *Tribolium castaneum*. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 585–595, 2008. DOI: 10.1016/j.dci.2007.09.005.

ALVES, Stênio Nunes; SERRÃO, José Eduardo;; MELO, Alan Lane. Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 592–597, 2010.

AMIRESSAMI, Mohsen. Verhalten der Mycetozellen nach Insectizid-Einwirkung bei *Pemphigus bursarius* L. (Aphidina). **Anzeiger für Schädlingkunde, Pflanzen-und Umweltschutz**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 52–55, 1973.

ANTONIOU, M.; HABIB, MEM; HOWARD, CV; JENNINGS, RC; C LEIFERT, RO; NODARI, CJ; AND, Robinson7; FAGAN, J. Teratogenic Effects of Glyphosate-Based Herbicides: Divergence of Regulatory Decisions from Scientific Evidence. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 01, n. S4, 2012. DOI: 10.4172/2161-0525.s4-006.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice monográfico – G01 – Glifosato**. [s.d.]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/G01%2B%2BGlifosato.pdf/6a549ab8-990c-4c6b-b421-699e8f4b9ab4>. Acesso em: 27 jun. 2022.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. NOTA TÉCNICA N° 23. [S. l.], 2018.

ARMSTRONG, Peter B.; MELCHIOR, Ralph; QUIGLEY, James P. Humoral immunity in long-lived arthropods. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 53–64, 1996. DOI: 10.1016/0022-1910(95)00082-8.

ARRESE, Estela L.; SOULAGES, Jose L. INSECT FAT BODY: ENERGY, METABOLISM, AND REGULATION. **Annu Rev Entomol.**, [S. l.], v. 55, p. 207–225, 2010. DOI: 10.1146/annurev-ento-112408-085356.

ARRIGO, André Patrick. Human small heat shock proteins: Protein interactomes of homo- and hetero-oligomeric complexes: An update. **FEBS Letters**, [S. l.], v. 587, n. 13, p. 1959–1969, 2013. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.05.011.

AZEVEDO, Patricia; BUTOLO, Nicole Pavan; DE ALENCAR, Luciano Delmondes; SOARES-LIMA, Hellen Maria; SALES, Victor Ribeiro; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Standardization of in vitro nervous tissue culture for honeybee: A high specificity toxicological approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 189, n. September 2019, 2020. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.110040.

BADAWY, Mohamed E. I.; NASR, Hoda M.; RABEA, Entsar I. Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 177–193, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0315-0.

BADIOU-BÉNÉTEAU, Alexandra; CARVALHO, Stephan M.; BRUNET, Jean Luc; CARVALHO, Geraldo A.; BULETÉ, Audrey; GIROUD, Barbara; BELZUNCES, Luc P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 82, p. 22–31, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 218, n. 17, p. 2799–2805, 2015. a. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie-Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **The Company of Biologists**, [S. l.], p. 2799–2805, 2015. b. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALSAMO, P. J.; DOMINGUES, C. E. D. C.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. D., GREGORC, A.; IRAZUSTA, S. P.; SALLA, R. F.; ABDALLA, F. C. Impact of sublethal doses of thiamethoxam and *Nosema ceranae* inoculation on the hepato-nephrotic system in young Africanized *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 350–361, 2020.

BASHA, Eman; O'NEILL, Heather; VIERLING, Elizabeth. Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. **Trends Biochem Sci.**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 106–117, 2012. DOI: 10.1016/j.tibs.2011.11.005.

BIERKENS, Johan G. E. A. Applications and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. **Toxicology**, [S. l.], v. 153, n. 1–3, p. 61–72, 2000. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00304-8.

BLACQUIÈRE, Tjeerd; SMAGGHE, Guy; VAN GESTEL, Cornelis A. M.; MOMMAERTS, Veerle. Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012. DOI: 10.1007/s10646-012-0863-x.

BOWEN, ID; MORGAN, SM; -, K. Mullarkey. Cell death in the salivary glands of metamorphosing *Calliphora vomitoria*. **Cell biology international**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 13–34, 1993.

BOŻENA, SZYMAŚA; JĘDRUSZUKB, Andrzej. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. **Apidologie**, [S. l.], v. 34, p. 97–102, 2003. DOI: 10.1051/apido:2003012.

BPBES. **Relatório Temático sobre Polinização , Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil**. [s.l: s.n.].

BRANDT, Annelly; GORENFLO, Anna; SIEDE, Reinhold; MEIXNER, Marina; BÜCHLER, Ralph. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 86, p. 40–47, 2016. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.01.001.

BRANDT, Annelly; GRIKSCHEIT, Katharina; SIEDE, Reinhold; GROSSE, Robert; MEIXNER, Marina Doris; BÜCHLER, Ralph. Immunosuppression in Honeybee Queens by the Neonicotinoids Thiacloprid and Clothianidin. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-04734-1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 46, de 24 de julho de 2002. Determina às empresas titulares de registros de agrotóxicos a retirada das indicações de misturas em tanque dos rótulos e bulas de seus agrotóxicos. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 4074 que regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providências. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. b.

BROSI, Berry J.; BRIGGS, Heather M. Single pollinator species losses reduce floral fidelity and plant reproductive function. **PNAS**, [S. l.], v. 110, n. 32, p. 13044–13048, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1307438110.

BUCEKOVA, M.; VALACHOVA, I.; KOHUTOVA, L.; PROCHAZKA, E.; KLAUDINY, J., &. MAJTAN, J. Honeybee glucose oxidase—its expression in honeybee workers and comparative analyses of its content and H₂O₂-mediated antibacterial activity in natural honeys. **Naturwissenschaften**, [S. l.], v. 101, n. 8, p. 661–670, 2014.

BUCKINGHAM, S. D.; LAPIED, B.; LE CORRONC, H.; GROLLEAU, F.; SATTELLE, D. B. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 200, n. 21, p. 2685–2692, 1997. DOI: 10.1242/jeb.200.21.2685.

BULET, Phillipe; HETRU, Charles; DIMARCQ, Jean-Luc; HOFFMANN, Danièle Le. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 23, p. 329–344, 1999.

BUTOLO, N. P.; AZEVEDO, P.; ALENCAR, L. D.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Impact of low temperatures on the immune system of honeybees. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 101, n. September, p. 103082, 2021. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2021.103082.

C, Hetru; D, Hoffmann; P, Bulet. Antimicrobial peptides from insects. *In*: **Molecular mechanisms of immune response in insects**. London: Chapman and Hal, 1998. p. 40–66.

CABRERO, Pablo; POLLOCK, Valerie P.; DAVIES, Shireen A.; DOW, Julian A. T. A conserved domain of alkaline phosphatase expression in the Malpighian tubules of dipteran insects. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 207, n. 19, p. 3299–3305, 2004. DOI: 10.1242/jeb.01156.

CAMPBELL, J. B.; NATH, R.; GADAU, J.; FOX, T.; DEGRANDI-HOFFMAN, G., &

- HARRISON, J. F. The fungicide Pristine® inhibits mitochondrial function in vitro but not flight metabolic rates in honey bees. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 86, p. 11–16, 2016.
- CAPELLA, Ines C. Schmid.; HARTFELDER, Klaus. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 44, n. 5–6, p. 385–391, 1998. DOI: 10.1016/S0022-1910(98)00027-4.
- CARNEIRO, Lenise Silva; TEIXEIRA, Stéphanie Asséf Millen Valente; GONÇALVES, Wagner Gonzaga; FERNANDES, Kenner Morais; ZANUNCIO, José Cola; SERRÃO, José Eduardo. Histochemistry, immunohistochemistry and cytochemistry of the anterior midgut region of the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Micron**, [S. l.], v. 113, n. June, p. 41–47, 2018. DOI: 10.1016/j.micron.2018.06.017.
- CASIDA, John E.; DURKIN, Kathleen A. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 58, p. 99–117, 2013. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153645.
- CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornelio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy research and technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. a.
- CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornélio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. b. DOI: 10.1002/jemt.22339.
- CHAM, Karina O. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. **Environmental Entomology**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 36–48, 2019. DOI: 10.1093/ee/nvy137.
- CHAN, Queenie W. T.; HOWES, Charles G.; FOSTER, Leonard J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. **Molecular and Cellular Proteomics**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 2252–2262, 2006. DOI: 10.1074/mcp.M600197-MCP200.
- CHAPMAN, Reginald Frederick. The insects: structure and function. **Cambridge university press**, [S. l.], 2013.
- CHEN, Kathryn T. et al. A Role for Intestinal Alkaline Phosphatase in the Maintenance of Local Gut Immunity. **Dig Dis Sci**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 1020–1027, 2011. DOI: 10.1007/s10620-010-1396-x.
- CLARE, Daniel K.; SAIBIL, Helen R. ATP-driven molecular chaperone machines. **Biopolymers**, [S. l.], v. 99, n. 11, p. 846–859, 2013. DOI: 10.1002/bip.22361.
- CLAUDIANOS, C.; RANSON, H.; JOHNSON, R. M.; BISWAS, S.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R.; FEYEREISEN, R.; OAKESHOTT, J. G. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 615–636, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x.
- COSTA, L. M.; GRELLA, T. C.; BARBOSA, R. A.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015. DOI: 10.13102/sociobiology.v62i4.792.
- COUSIN, Marianne; SILVA-ZACARIN, Elaine; KRETZSCHMAR, André; EL MAATAOUI, Mohamed; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Size Changes in Honey Bee Larvae Oenocytes Induced by Exposure to Paraquat at Very Low Concentrations. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0065693.

- COUTURE, G.; LEGRIS, J.; LANGEVIN, R. Evaluation des impacts du glyphosate utilise dans le milieu forestier. **Ministere des Ressources Naturelles, Direction de Penvironnement forestier, Service du suivi environmental, Charlesbourg, Quebec, Canada.**, [S. l.], 1995.
- COX-FOSTER, Diana L. et al. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. **Science**, [S. l.], v. 318, n. 5848, p. 283–287, 2007. DOI: 10.1126/science.1146498.
- CRAUSER, Didier; CONTE, Yves Le; ALAUX, Cédric; DUCLOZ, François. Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters**, [S. l.], v. 45, n. January, p. 562–565, 2010.
- CREMER, Sylvia; ARMITAGE, Sophie A. O.; SCHMID-HEMPE, Paul. Social Immunity. **Current Biology**, [S. l.], v. 17, p. 693–702, 2007. DOI: 10.1016/j.cub.2007.06.008.
- CRUZ-LANDIM, Carminda Da. Abelhas: morfologia e função de sistemas. [S. l.], 2009.
- CRUZ-LANDIMM, C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. UNESP ed. São Paulo. DOI: 10.7476/9788539304301.
- DA COSTA, Leticia Mariano; GRELLA, Tatiane Caroline; BARBOSA, Rodrigo Avelaira; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015.
- DA CRUZ-LANDIM, C. O corpo gorduroso da larva de *Melipona quadrifasciata* anthidioides Lep.(Apidae, Meliponinae). **Naturalia (São José do Rio Preto)**, [S. l.], v. 8, p. 7–23, 1983.
- DA CRUZ-LANDIM, Carminda; MELO CAVALCANTE, Vagner. Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Metamorphosis in the Midgut of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae: Apinae). **Zoological Science**, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 1099–1107, 2003. DOI: 10.2108/zsj.20.1099.
- DA CRUZ LANDIM, Carminda. **Abelhas**. [s.l: s.n.].
- DAVID, Arthur; BOTÍAS, Cristina; ABDUL-SADA, Alaa; GOULSON, Dave; HILL, Elizabeth M. Sensitive determination of mixtures of neonicotinoid and fungicide residues in pollen and single bumblebees using a scaled down QuEChERS method for exposure assessment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 407, p. 26, 2015. DOI: 10.1007/s00216-015-8986-6.
- DE ALMEIDA ROSSI, Caroline; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOŁOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Effects of sublethal doses of imidacloprid in malpighian tubules of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 76, n. 5, p. 552–558, 2013. DOI: 10.1002/jemt.22199.
- DE ASSIS, J. C.; DA COSTA DOMINGUES, C. E.; TADEI, R.; DA SILVA, C. I.; LIMA, H. M. S.; DECIO, P., &. SILVA-ZACARIN, E. C. Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 304, p. 119140, 2022.
- DE MENEZES PEDRO, Silvia Regina. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 61, n. 4, p. 348–354, 2014. DOI: 10.13102/sociobiology.v61i4.348-354.
- DE SOUSA, Cristina Soares; SERRÃO, José Eduardo; BONETTI, Ana Maria; AMARAL, Isabel Marques Rodrigues; KERR, Warwick Estevam; MARANHÃO, Andréa Queiroz; UEIRA-VIEIRA, Carlos. Insights into the *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) fat body transcriptome. **Genetics and Molecular Biology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 292–297, 2013. DOI: 10.1590/S1415-47572013000200022.
- DEAN, R. L. .; LOCKE, M. .; COLLINS, J. V. Structure of the fat body. *In*: KERKUT, G. A. .; GILBERT, L. I. (org.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**.

New. 3. ed. New York: Pergamon Press, 1985. p. 155–210.

DÉCIO, Pâmela. **ESTRESSE CELULAR E ATIVIDADE DE ENZIMAS BIOMARCADORAS EM ABELHAS AFRICANIZADAS *Apis mellifera* LINEU, 1758 (HYMENOPTERA, APIDAE) EXPOSTAS AO TIAMETOXAM.** 2019. [S. l.], 2019.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: **Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors**. Springer ed. New York. p. 85–95.

DECOURTYE, Axel; ARMENGAUD, Catherine; RENO, Michel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; GAUTHIER, Monique; PHAM-DELÈGUE, Minh Hà. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 83–92, 2004. a. DOI: 10.1016/j.pestbp.2003.10.001.

DECOURTYE, Axel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; CHARRETON, Mercedes; PHAM-DELÈGUE, Minh-Hà. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 57, p. 410–419, 2004. b. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.001.

DESNEUX, Nicolas; DECOURTYE, Axel; DELPUECH, Jean-Marie. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annu. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 52, p. 81–106, 2007.

DEVKOTA, Kedar; DHAKAL, Shiva Chandra; THAPA, Resham Bahadur. Economics of beekeeping as pollination management practices adopted by farmers in Chitwan district of Nepal. **Agriculture and Food Security**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–6, 2016. DOI: 10.1186/s40066-016-0053-9.

DI NOI, Agata; CASINI, Silvia; CAMPANI, Tommaso; CAI, Giampiero; CALIANI, Ilaria. 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**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 1–22, 2021. DOI: 10.3390/ijerph18041863.

DI PRISCO, Gennaro; CAVALIERE, Valeria; ANNOSCIA, Desiderato; VARRICCHIO, Paola; CAPRIO, Emilio; NAZZI, Francesco; GARGIULO, Giuseppe; PENNACCHIO, Francesco. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 110, n. 46, p. 18466–18471, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1314923110.

DIMITRIADIS, V. K.; KASTRITSIS, C. D. Ultrastructural Analysis of the Midgut of *Drosophila auraria* larvae-Distribution of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, Leucine Aminopeptidase, and Glycogen V. **Cytologia**, [S. l.], v. 50, p. 689–700, 1985.

DOMINGUES, Caio E. C.; ABDALLA, Fábio Camargo; BALSAMO, Paulo José; PEREIRA, Beatriz V. R.; HAUSEN, Moema de Alencar; COSTA, Monica Jones; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotic system of the Africanized honeybee. **Chemosphere**, [S. l.], v. 186, p. 994–1005, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.133.

DOU. PORTARIA Nº 148. **Diário Oficial da União**, [S. l.], v. 248, 2017.

DUBOVSKIY, IM; KRYUKOVA, NA; GLUPOV, VV; RATCLIFFE, NA. Encapsulation and nodulation in insects. **REVIEW**, [S. l.], p. 229–246, 2016.

DUNN, Peter E. BIOCHEMICAL ASPECTS OF INSECT IMMUNOLOGY. **Ann. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 31, p. 321–339, 1986.

EL-MOHANDES, S. S.; NAFEA, E. A.; FAWZY, A. M. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 3, p. 213–220, 2010. DOI: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.

EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana; GÓIS, Glayciane Costa; SILVA, Claudete Maria Da; SOUZA, Darklê Luiza De; SOUZA, Denize Núbia; SILVA, Patrícia Cândido da Cruz; ALVES, Elisângela de lima; RODRIGUES, Marcelo Luis. Desenvolvimento produtivo de colmeias de abelhas *Melipona scutellaris*. **Biotemas**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 59–64, 2008.

EVGEN'EV, Michael B.; GARBUZ, David G.; ZATSEPINA, Olga G. **Heat Shock Proteins and Whole Body Adaptation to Extreme Environments**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1007/978-94-017-9235-6_5.

FAITA, M. R.; DE MEDEIROS OLIVEIRA, E.; JÚNIOR, V. V. A.; ORTH, A. I., &. NODARI, R. O. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. **Chemosphere**, [S. l.], v. 211, p. 566–572, 2018.

FENG, Hongzu; WANG, Lan; LIU, Yinghong; HE, Lin; LI, Ming; LU, Wencai; XUE, Chuanhua. Molecular characterization and expression of a heat shock protein gene (HSP90) from the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 10, n. 112, p. 1–14, 2010. DOI: 10.1673/031.010.11201.

FERRANDON, Dominique; IMLER, Jean Luc; HETRU, Charles; HOFFMANN, Jules A. The *Drosophila* systemic immune response: Sensing and signalling during bacterial and fungal infections. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. 862–874, 2007. DOI: 10.1038/nri2194.

FREE, Gary D. Variables affecting guilty pleas and convictions in rape cases: Toward a social theory of rape processing. **Social Forces**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 833–850, 1980.

FREITAS, Breno Magalhães; PINHEIRO, José Nunes. EFEITOS SUB-LETAIS DOS PESTICIDAS AGRÍCOLAS E SEUS IMPACTOS NO MANEJO DE POLINIZADORES DOS AGROECOSSISTEMAS BRASILEIROS. **Oecologia Australis**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 282–298, 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1401.17.

FREITAS, BRENO MAGALHÃES; SILVA, CLÁUDIA INÊS DA. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil: A polinização. **Agricultura e Polinizadores**, [S. l.], n. 1, p. 10–10, 2015.

FRYDMAN, Judith. F OLDING OF N EWLY T RANSLATED P ROTEINS I N V IVO : The Role of Molecular Chaperones. **Annu. Rev. Biochem.**, [S. l.], p. 603–647, 2001.

GARIBALDI, Lucas A.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; WINFREE, Rachael; WESTPHA, Catrin; WILLIAMS, Neal; KLEIN, Alexandra M. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. **Science**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1126/science.1230200.

GARRIDO, Carmen; GURBUXANI, Sandeep; RAVAGNAN, Luigi; KROEMER, Guido. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 286, n. 3, p. 433–442, 2001. DOI: 10.1006/bbrc.2001.5427.

GARRIDO, Paula Melisa; ANTÚNEZ, Karina; MARTÍN, Mariana; PORRINI, Martín Pablo; ZUNINO, Pablo; EGUARAS, Martín Javier. Immune-related gene expression in nurse honey bees (*Apis mellifera*) exposed to synthetic acaricides. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 113–119, 2013. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2012.10.019.

GÄTSCHENBERGER, Heike; AZZAMI, Klara; TAUTZ, Jürgen; BEIER, Hildburg. Antibacterial Immune Competence of Honey Bees (*Apis mellifera*) Is Adapted to Different Life Stages and Environmental Risks. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 6, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0066415.

GAZZIERO, D. L. ... MISTURAS DE AGROTÓXICOS EM TANQUE NAS PROPRIEDADES AGRÍCOLAS DO BRASIL. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 83–92, 2015.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. a. DOI: 10.1093/jee/tov093.

GIANNINI, Tereza Cristina; CORDEIRO, Guaraci Duran; FREITAS, Breno M.; SARAIVA, Antonio Mauro; IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lúcia. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. b.

GIESY, John P. ...; DOBSON, Stuart;; SOLOMON, Keith R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, [S. l.], p. 35–120, 2000.

GILLESPIE, P; JEREMY; KANOST, Michael R. ...; TRENCZEK, Tina. Biological mediators of insect immunity. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 611–643, 1997.

GONG, Youhui; DIAO, Qingyun. Current knowledge of detoxification mechanisms of xenobiotic in honey bees. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 0–1, 2017. DOI: 10.1007/s10646-016-1742-7.

GONZÁLEZ-SANTOYO, Isaac; CÓRDOBA-AGUILAR, Alex. Phenoloxidase: A key component of the insect immune system. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, [S. l.], v. 142, n. 1, p. 1–16, 2012. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x.

GOUGH, H. ...; MCINDOE, E. ...; LEWIS, G. ... The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 22, p. 119–125, 1994.

GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology** 2013, [S. l.], v. 50, p. 977–987, 2013. a. DOI: 10.1111/1365-2664.12111.

GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 977–987, 2013. b.

GREGORY, Casey L.; FELL, Richard D.; BELDEN, Lisa K.; WALKE, Jenifer B. Classic Hoarding Cages Increase Gut Bacterial Abundance and Reduce the Individual Immune Response of Honey Bee (*Apis mellifera*) Workers. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 1–5, 2022. DOI: 10.1093/jisesa/ieac016.

GRZELAK, Krystyna; KUMARAN, A. Krishna. Developmental changes in the larval fat body during metamorphosis in *Galleria mellonella*. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 445–453, 1986. DOI: 10.1016/0022-1910(86)90005-3.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. **CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - Gramado**, [S. l.], v. 29, 2014.

HAN, Peng; NIU, Chang Ying; LEI, Chao Liang; CUI, Jin Jie; DESNEUX, Nicolas. Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera* L. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 1612–1619, 2010. DOI: 10.1007/s10646-010-0546-4.

HAVARD, Tiphaine; LAURENT, Marion; CHAUZAT, Marie-pierre. Hymenoptera : Apidae): Some Guidance for Research Emerge from a Meta-Analysis. **Diversity**, [S. l.], v. 12, n. 7, p. 1–13, 2020. DOI: doi:10.3390/d12010007.

HEARD, Tim A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 44, n. June, p. 183–206, 1999. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.183.

HELMBRECHT, K.; ZEISE, E.; RENSING, L. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: A review. **Cell Proliferation**, [S. l.], v. 33, n. 6, p. 341–365, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-2184.2000.00189.x.

HELMER, S. H.; KERBAOL, A.; ARAS, P.; JUMARIE, C., &. BOILY, M. Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 22, n. 11, p. 8010–8021, 2015.

HENRY, Mickaël; BÉGUIN, Maxime; REQUIER, Fabrice; ROLLIN, Oriane; ODOUX, Jean François; AUPINEL, Pierrick; APTEL, Jean; TCHAMITCHIAN, Sylvie; DECOURTYE, Axel. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, [S. l.], v. 336, n. 6079, p. 348–350, 2012. DOI: 10.1126/science.1215039.

HERBERT, Lucila T.; VÁZQUEZ, Diego E.; ARENAS, Andrés; FARINA, Walter M. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **The Company of Biologists Ltd | The Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, p. 3457–3464, 2014. DOI: 10.1242/jeb.109520.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2016.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores - Parecer técnico nº sei ibama 6220406. **Ministério do Meio Ambiente**, [S. l.], p. 1–298, 2019.

ILYASOV, Rustem A.; GAIFULLINA, Louisa R.; TYKOVA, Elena S. ... Sal; SKRYAKOV, Aleksandr V. Po; NIKOLENKO, Alexei G. REVIEW OF THE EXPRESSION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE DEFENSIN IN HONEY BEES *APIS MELLIFERA L.* **Journal of Apicultural Science**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 115–124, 2012. DOI: 10.2478/v10289-012-0013-y.

IPBES, Intergovernmental Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. **Summary for policymakers of the assessment report on pollinators, pollination and food production .Platform on Biodiversity and Ecosystem Services**. Bonn, Germany.

JACOB, Cynthia R. O.; SOARES, Hellen M.; NOCELLI, C. F.; MALASPINA, Osmar. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Pest Manag Sci**, [S. l.], v. 71, p. 114–122, 2015. DOI: 10.1002/ps.3776.

JAMES, R. R. ...; XU, J. Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. **Journal of invertebrate pathology**, [S. l.], v. 109, n. 2, p. 175–182, 2012.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; JUNQUEIRA, LMMS. Técnicas básicas de citologia e histologia. **São Paulo: Santos**, [S. l.], p. 124, 1983.

KAIRO, Guillaume et al. Assessment of the toxic effect of pesticides on honey bee drone fertility using laboratory and semifield approaches: A case study of fipronil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 36, n. 9, p. 2345–2351, 2017. DOI: 10.1002/etc.3773.

KAVANAGH, Kevin; REEVES, Emer P. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 101–112, 2004. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.09.002.

KEELEY, LARRY L. **Physiology and Biochemistry of the Fat Body**. [s.l.] : Pergamon Press Ltd., 1985. v. 2 DOI: 10.1016/b978-0-08-030804-3.50012-1.

KERR, W. E. **Biologia e manejo de meliponíneos**. 1996.

KERR, Warwick Estevam; BUENO, David. NATURAL CROSSING BETWEEN *APIS MELLIFERA ADANSONII* AND *APIS MELLIFERA LIGUSTICA*. **EVOLUTION**, [S. l.], v.

24, p. 145–148, 1970.

KLEIN, Alexandra-Maria; VAISSIÈRE, Bernard E.; CANE, James H.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; CUNNINGHAM, Saul A.; KREMEN, Claire; TSCHARNTKE, Teja. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **The Royal Society**, [S. l.], p. 303–313, 2007. DOI: 10.1098/rspb.2006.3721.

KORNER, Pius; SCHMID-HEMPEL, Paul. Correlates of parasite load in bumblebees in an Alpine habitat. **Entomological Science**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 151–160, 2005. DOI: 10.1111/j.1479-8298.2005.00113.x.

KRAUTZ, Robert; AREFIN, Badrul; THEOPOLD, Ulrich. Damage signals in the insect immune response. **Plant Science**, [S. l.], v. 5, p. 1–11, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00342.

KREGEL, K. C. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 92, p. 2177–2186, 2002.

KREMEN, Claire et al. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms : a conceptual framework for the effects of land-use change. **Ecology Letters**, [S. l.], v. 10, p. 299–314, 2007. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x.

LA MORANDIN, ML Winston. Effects of novel pesticides on bumble bee (Hymenoptera: Apidae) colony health and foraging ability. **Environmental Entomology**, [S. l.], 2003.

LAMBERT, Olivier et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons : Bees , honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. **Chemosphere**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 98–104, 2012. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.09.025.

LAUGHTON, Alice M.; BOOTS, Michael; SIVA-JOTHY, Michael T. The ontogeny of immunity in the honey bee, *Apis mellifera* L. following an immune challenge. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 57, n. 7, p. 1023–1032, 2011. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2011.04.020.

LAVINE, M. D.; STRAND, M. R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 32, p. 1295–1309, 2002.

LAW, J. H.; WELLS, M. A. Insects as biochemical models. **The Journal of biological chemistry**, [S. l.], v. 264, n. 28, p. 16335–16338, 1989. DOI: 10.1016/s0021-9258(19)84707-5.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. &. COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4 ed ed. São Paulo: Savier, 2007.

LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January 2021, p. 315–333, 2019. a. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.

LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, p. 315–333, 2019. b. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.

LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January, p. 315–333, 2019. c. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.

LIMA, L. C. F. Produtos fitossanitários: misturas em tanque. **Cascavel: Ocepar/Coodetec/Associação Nacional de Defesa Vegetal**, [S. l.], 1997.

LINDQUIST, S. THE HEAT -SHOCK PROTEINS. **Annu. Rev. Genet.**, [S. l.], v. 22, p. 631–677, 1988.

LIPOVŠEK, Saška; JANŽEKOVIČ, Franc; NOVAK, Tone. Ultrastructure of fat body cells and Malpighian tubule cells in overwintering *Scoliopteryx libatrix* (Noctuoidea). **Protoplasma**, [S. l.], v. 254, n. 6, p. 2189–2199, 2017. DOI: 10.1007/s00709-017-1110-3.

- LOCKE, M. The structure and development of the vacuolar system in the fat body of insects. **Insect ultrastructure. 2 ed. New York: Plenum Press**, [S. l.], p. 151–197, 1984.
- LÓPEZ-URIBE, Margarita M.; FITZGERALD, Andrea; SIMONE-FINSTROM, Michael. Inducible versus constitutive social immunity: Examining effects of colony infection on glucose oxidase and defensin-1 production in honeybees. **Royal Society Open Science**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 10–17, 2017. DOI: 10.1098/rsos.170224.
- LOVALLO, Naomi; COX-FOSTER, L, Diana. Alteration in FAD–glucose dehydrogenase activity and hemocyte behavior contribute to initial disruption of *Manduca sexta* immune response to *Cotesia congregata* parasitoids. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1037–1048, 1999.
- LU, Kai; CHEN, Xia; LIU, Wenting; ZHOU, Qiang. Identification of a heat shock protein 90 gene involved in resistance to temperature stress in two wing-morphs of *Nilaparvata lugens* (Stål). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S. l.], v. 197, p. 1–8, 2016. DOI: 10.1016/J.CBPA.2016.02.019.
- LYCETT, G. C.; MCLAUGHLIN, L. A.; RANSON, H.; HEMINGWAY, J.; KAFATOS, F. C.; LOUKERIS, T. G.; PAINE, M. J. I. *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], p. 7, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2586.2006.00647.x.
- MAGGI, Matías et al. Honeybee health in South America. **Apidologie**, [S. l.], v. 47, n. 6, p. 835–854, 2016. DOI: 10.1007/s13592-016-0445-7.
- MALASPINA, Osmar; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Cell makers for ecotoxicological studies in target organs of bees. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, [S. l.], p. 2006, 2006.
- MANJON, Cristina et al. **Unravelling the Molecular Determinants of Bee Sensitivity to Neonicotinoid Insecticides** *Current Biology*. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1016/j.cub.2018.02.045.
- MARIMOTO, R. I. ..; TISSIERES, A. ..; GEORGOPOULOUS, C. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press . 1994. **New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press**, [S. l.], 1994.
- MARTINS, Gustavo Ferreira; RAMALHO-ORTIGÃO, J. M. Oenocytes in insects. **Invertebrate Survival Journal**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 139–152, 2012.
- MASON, Rosemary. Immune Suppression by Neonicotinoid Insecticides at the Root of Global Wildlife Declines. **Journal of Environmental Immunology and Toxicology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 3, 2013. DOI: 10.7178/jeit.1.
- MATTSON, Mark P.; CALABRESE, Edward J. **Hormesis: A revolution in biology, toxicology and medicine**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-1-60761-495-1.
- MCKINSTRY, Mia; CHUNG, Charlie; TRUONG, Henry; JOHNSTON, Brittany A.; SNOW, Jonathan W. The heat shock response and humoral immune response are mutually antagonistic in honey bees. **Scientific Reports**, [S. l.], p. 1–14, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-09159-4.
- MDIC (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, Comércio Exterior e Serviços). **http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais_2020** MDIC, 2022 **<https://www.gov.br/produtividade-e-comercio-exterior/pt-br/assuntos/comercio-exterior/estatisticas/>**. 2022. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais_2020.
- MEUNIER, Joël. Social immunity and the evolution of group living in insects. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 370, n. 1669, p. 19–21, 2015. DOI: 10.1098/rstb.2014.0102.

MEYER, T. N.; SILVA, A. L. Resposta celular ao estresse. **Rev Ass Med Brasil** 1999; [S. l.], p. 181–188, 1999.

MOFFAT, Christopher; PACHECO, Joao Goncalves; SHARP, Sheila; SAMSON, Andrew J.; BOLLAN, Karen A.; HUANG, Jeffrey; BUCKLAND, Stephen T.; CONNOLLY, Christopher N. Chronic exposure to neonicotinoids increases neuronal vulnerability to mitochondrial dysfunction in the bumblebee (*Bombus terrestris*). **The FASEB Journal** •, [S. l.], 2019. DOI: 10.1096/fj.14-267179.

MORITZ, Robin F. A.; DE MIRANDA, Joachim; FRIES, Ingemar; LE CONTE, Yves; NEUMANN, Peter; PAXTON, Robert J. Research strategies to improve honeybee health in Europe. **Apidologie**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 227–242, 2010. DOI: 10.1051/apido/2010010.

MOSSER, Dick D.; CARON, Antoine W.; BOURGET, Lucie; DENIS-LAROSE, Claude; HP, Canada. Role of the Human Heat Shock Protein hsp70 in Protection against Stress-Induced Apoptosis. **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY**, [S. l.], v. 17, n. 9, p. 5317–5327, 1997.

NAZIR, Aamir; SAXENA, Daya Krishna;; CHOWDHURI, Debapratim Kar. Induction of hsp70 in transgenic *Drosophila*: biomarker of exposure against phthalimide group of chemicals. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, [S. l.], v. 191621, n. 2, p. 218–225, 2003.

NAZZI, Francesco; LE CONTE, Yves. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 61, p. 417–432, 2016. DOI: 10.1146/annurev-ento-010715-023731.

NEGRI, Pedro; MAGGI, Matias D.; RAMIREZ, Leonor; DE FEUDIS, Leonardo; SZWARSKI, Nicolás; QUINTANA, Silvina; EGUARAS, Marin J.; LAMATTINA, Lorenzo. Abscisic acid enhances the immune response in *Apis mellifera* and contributes to the colony fitness. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 542–557, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0345-7.

NEGRI, Pedro; QUINTANA, Silvina; MAGGI, Matias; SZAWARSKI, Nicolas; LAMATTINA, Lorenzo; EGUARAS, Martin. *Apis mellifera* hemocytes generate increased amounts of nitric oxide in response to wounding/encapsulation. **Apidologie**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 610–617, 2014. DOI: 10.1007/s13592-014-0279-0.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. Uso de atrativos e repelentes na polinização dirigida. In: **ANAIS ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., Ribeirão Preto**, [S. l.], p. 21–27, 1998.

NOVAIS, Samuel M. A.; NUNES, Cassio A.; SANTOS, Natália B.; D'AMICO, Ana R.; FERNANDES, G. Wilson; QUESADA, Mauricio; BRAGA, Rodrigo F.; NEVES, Ana Carolina O. Effects of a Possible Pollinator Crisis on Food Crop Production in Brazil. **PloS one**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1–12, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0167292.

NUNES, Lorena Andrade; PINTO, Maria de Fátima Ferreira da Costa; CARNEIRO, Paulo; PEREIRA, Derval Gomes; WALDSCHMIDT, Ana Maria. GENETIC DIVERGENCE IN *Melipona scutellaris* LATREILLE (Hymenoptera: Apidae) ON THE BASIS OF MORPHOLOGIC CHARACTERS. **Biosci. J., Uberlândia**, [S. l.], v. 23, p. 1–9, 2007.

OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test t, n.214. **GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. Honeybees**, [S. l.], p. 7, 1998.

PAES DE OLIVEIRA, V. T. .; CRUZ-LANDIM, C. Size. Size of fat body trophocytes and the ovarian development in workers and queens of *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Sociobiology**, [S. l.], p. 701–709, 2003.

PETROS, AM; OLEJNICZAK, ET; FESIK, SW. Structural biology of the Bcl-2 family of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1644, n. 2–3, p. 84–93, 2004.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A. e; ALCÂNTARA NETO, F. INCOMPATIBILIDADE FÍSICA DE MISTURAS ENTRE HERBICIDAS E INSETICIDAS. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 449–457, 2012.

PETTIS, Jeffery S.; LICHTENBERG, Elinor M.; ANDREE, Michael; STITZINGER, Jennie; ROSE, Robyn; VANENGELSDORP, Dennis. Crop Pollination Exposes Honey Bees to Pesticides Which Alters Their Susceptibility to the Gut Pathogen *Nosema ceranae*. **Plos One**, [S. l.], v. 8, n. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0070182.

PILLING, Edward D. ...; JEPSON, Paul C. Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). **Pesticide Science**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 293–297, 1993.

PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. D. S.; CHAM, K. O.; VIANA-SILVA, F. E. C.; BORGES, L. O.; TONELLI, C. A. M.; CIONE, A. P. Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos. **Brasília: Ibama**, [S. l.], 2018.

POLETTAA, G. L.; LARRIERA, A.; KLEINSORGE, E.; MUDRY, M. D. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. **Mutation Research**, [S. l.], p. 95–102, 2009. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.10.007.

POTTS, Simon G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature Publishing Group**, [S. l.], v. 540, n. 7632, p. 220–229, 2016. DOI: 10.1038/nature20588.

POTTS, Simon G.; BIESMEIJER, Jacobus C.; KREMEN, Claire; NEUMANN, Peter; SCHWEIGER, Oliver; KUNIN, William E. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010. DOI: 10.1016/j.tree.2010.01.007.

POWNER, Michael B.; SALT, Thomas E.; HOGG, Chris; JEFFERY, Glen. Improving Mitochondrial Function Protects Bumblebees from Neonicotinoid Pesticides. **PloS one**, [S. l.], p. 1–11, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0166531.

PRADO, Fernanda Scavassa Ribeiro. **Análise cromatográfica da abamectina e do difenoconazol em amostras de tecido de abelhas da espécie *Melipona scutellaris* e avaliação de efeitos de biomarcadores bioquímicos**. 2020. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2020.

QIAO, Li; WU, Jun X.; QIN, Dao Z.; LIU, Xiang C.; LU, Zhao C.; LV, Li Z.; PAN, Zi L.; CHEN, Hao; LI, Guang W. Gene expression profiles of heat shock proteins 70 and 90 from *Empoasca onukii* (Hemiptera: Cicadellidae) in response to temperature stress. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015. DOI: 10.1093/jisesa/iev030.

REEVES, Alison M.; O'NEAL, Scott T.; FELL, Richard D.; BREWSTER, Carlyle C.; ANDERSON, Troy D. In-hive acaricides alter biochemical and morphological indicators of honey bee nutrition, immunity, and development. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 1–6, 2018. DOI: 10.1093/jisesa/iey086.

RICKETTS, Taylor H. et al. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? **Ecology Letters**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 499–515, 2008. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x.

ROBERT, B.; JR, Bowers; GEORGE, N.; ALKALINE, Solomon. **Alkaline phosphatase**. [s.l.] : Springer Science & Business Media, 2013.

RÖHL, Alina; ROHRBERG, Julia;; BUCHNER, Johannes. The chaperone Hsp90: changing partners for demanding clients. **Trends in biochemical sciences**, [S. l.], v. 138, n. 5, p. 253–262, 2013.

ROMA, Gislaine Cristina; BUENO, Odair Corrêa; CAMARGO-MATHIAS, Maria Izabel. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: A review. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 5, p.

395–401, 2010. DOI: 10.1016/j.micron.2009.12.007.

ROMER, Franz; EMMERICH, Hans;; NOWOCK, Joachim. Biosynthesis of ecdysones in isolated prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor* in vitro. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 20, n. 10, p. 1975–1987, 1974.

RONDEAU, Gary; SÁNCHEZ-BAYO, Francisco; TENNEKES, Henk A.; DECOURTYE, Axel; RAMÍREZ-ROMERO, Ricardo; DESNEUX, Nicolas. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 4, p. 1–8, 2014. DOI: 10.1038/srep05566.

ROSSI, Caroline de Almeida; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOLOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Brain Morphophysiology of Africanized Bee *Apis mellifera* Exposed to Sublethal Doses of Imidacloprid. **Arch Environ Contam Toxicol**, [S. l.], p. 234–243, 2013. DOI: 10.1007/s00244-013-9897-1.

RUBIO, Fernando; GUO, Emily; KAMP, Lisa. Survey of Glyphosate Residues in Honey , Corn and Soy Products. **Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2014. DOI: 10.4172/2161-0525.1000249.

SCHMID-HEMPEL, Paul. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 50, p. 529, 2005.

SCHMID, Martin R.; BROCKMANN, Axel; PIRK, Christian W. W.; STANLEY, David W.; TAUTZ, Jürgen. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 439–444, 2008. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.

SGOLASTRA, Fabio et al. Synergistic interactions between pesticides in three bee species. **Pest Management Science**, [S. l.], p. doi: 10.1002/ps.4449, 2016. DOI: 10.1002/ps.4449.

SHORTER, James. The Mammalian Disaggregase Machinery: Hsp110 Synergizes with Hsp70 and Hsp40 to Catalyze Protein Disaggregation and Reactivation in a Cell-Free System. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 10, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0026319.

SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; GREGORC, Ales; MORAES, Regina L. M. S. In situ localization of heat-shock proteins and cell death labelling in the salivary gland of acaricide-treated honeybee larvae *. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, p. 507–516, 2006. DOI: 10.1051/apido.

SILVA, Mariana Barrotti Da; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira; SOARES, Hellen Maria; MALASPINA, Osmar. Efeitos do imidacloprido sobre o comportamento das abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille , 1807 (Hymenoptera , Apidae). **Ciência, Tecnologia e Ambiente**, [S. l.], 2016.

SIVA-JOTHY, Michael T.; MORET, Yannick; ROLFF, Jens. **Insect Immunity : An Evolutionary Ecology Perspective**. [s.l: s.n.]. v. 32 DOI: 10.1016/S0065-2806(05)32001-7.

SIVITER, Harry; BAILES, Emily J.; MARTIN, Callum D.; OLIVER, Thomas R.; KORICHEVA, Julia; LEADBEATER, Ellouise; BROWN, Mark J. F. Agrochemicals , but not other stressors , interact synergistically to increase bee mortality. [S. l.], [s.d.].

SLAA, Ester Judith; SÁNCHEZ CHAVES, Luis Alejandro; MALAGODI-BRAGA, Katia Sampaio; HOFSTEDDE, Frouke Elisabeth. Stingless bees in applied pollination: Practice and perspectives. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 293–315, 2006. DOI: 10.1051/apido:2006022.

SOARES-LIMA, Hellen Maria. **EFEITOS COMBINADOS DE *Nosema ceranae* E DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* AFRICANIZADA**. 2017. [S. l.], 2017.

SOLOMON, Keith; THOMPSON, Dean. Ecological Risk Assessment for Aquatic Organisms

from Over-Water Uses of Glyphosate FROM OVER-WATER USES OF GLYPHOSATE. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, [S. l.], v. 7404, 2003. DOI: 10.1080/10937400306468.

STEINMANN, Nadja; CORONA, Miguel; NEUMANN, Peter; DAINAT, Benjamin. Overwintering is associated with reduced expression of immune genes and higher susceptibility to virus infection in honey bees. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 1–18, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0129956.

SUCHAIL, Séverine; DEBRAUWER, Laurent; BELZUNCES, Luc P. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 291–296, 2004. DOI: 10.1002/ps.772.

SUN, S. M.; ZHU, J.; GE, X. P.; ZHANG, C. F.; MIAO, L. H.; JIANG, X. J. Cloning and expression analysis of a heat shock protein 90 β isoform gene from the gills of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) subjected to nitrite stress. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 3036–3051, 2015. DOI: 10.4238/2015.April.10.14.

TAKEUCHI, Hideaki; PAUL, Rajib Kumar; MATSUZAKA, Emiko; KUBO, Takeo. EcR-A expression in the brain and ovary of the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Zoological Science**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 596–603, 2007. DOI: 10.2108/zsj.24.596.

TAVARES, Daiana Antonia; DUSSAUBAT, Claudia; KRETZSCHMAR, André; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; MALASPINA, Osmar; BÉRAIL, Géraldine; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 229, p. 386–393, 2017. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.05.092.

TAVARES, Daiana Antonia; ROAT, Thaisa Cristina; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine Cristina Mathias; MALASPINA, Osmar. Chemosphere In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, [S. l.], v. 135, p. 370–378, 2015. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.090.

TOLEDO, R. J. ...; GUILLÉN, S. D. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**, [S. l.], v. 30, p. 408–413, 2014.

TOMIZAWA, Motohiro; CASIDA, John E. SELECTIVE TOXICITY OF NEONICOTINOIDS ATTRIBUTABLE TO SPECIFICITY OF INSECT AND MAMMALIAN NICOTINIC RECEPTORS. **Annu. Rev. Entomol.**, [S. l.], p. 339–364, 2003. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731.

TOMIZAWA, Motohiro; OTSUKA, Hiroko; MIYAMOTO, Toru; YAMAMOTO, Izuru; ELDEFRAWI, Mohyee E. Pharmacological Characteristics of Insect Nicotinic Acetylcholine Receptor with Its Ion Channel and the Comparison of the Effect of Nicotinoids and Neonicotinoids. **Journal of Pesticide Science**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 57–64, 1995. DOI: 10.1584/jpestics.20.57.

TONI, Luís R. M.; SANTANA, Henrique De. Divulgação. [S. l.], v. 29, n. 4, p. 829–833, 2006.

TORNISIELO, Valdemar Luiz; BOTELHO, Rafael Grossi; ALVES, Paulo Alexandre de Toledo; BONFLEUR, Eloana Janice; MONTEIRO, Sergio Henrique. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. **Intech**, [S. l.], p. 17, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/55948>.

TOSI, S.; SFEIR, C.; CARNESECCHI, E., &. CHAUZAT, M. P. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. **Science of The Total Environment**, [S. l.], p. 156857, 2022.

TOSI, Simone; COSTA, Cecilia; VESCO, Umberto; QUAGLIA, Giancarlo; GUIDO, Giovanni. A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by

agricultural pesticides. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 615, p. 208–218, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.226.

TSUTSUMI, Shinji; NECKERS, Len. Extracellular heat shock protein 90: A role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. **Cancer Science**, [S. l.], v. 98, n. 10, p. 1536–1539, 2007. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00561.x.

VABULAS, R. Martin; RAYCHAUDHURI, Swasti; HAYER-HARTL, Manajit; HARTL, F. Ulrich. Protein folding in the cytoplasm and the heat shock response. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, [S. l.], v. 2, n. 12, p. 19, 2010. DOI: 10.1101/cshperspect.a004390.

VANDERPLANCK, Maryse et al. Monitoring bee health in European agroecosystems using wing morphology and fat bodies. **One Ecosystem**, [S. l.], v. 6, p. 16, 2021. DOI: 10.3897/oneeco.6.e63653.

VESTERLUND, S. R.; LILLEY, T. M.; VAN OOIK, T.; SORVARI, J. The effect of overwintering temperature on the body energy reserves and phenoloxidase activity of bumblebee *Bombus lucorum* queens. **Insectes Sociaux**, [S. l.], v. 61, n. 3, p. 265–272, 2014. DOI: 10.1007/s00040-014-0351-9.

VIDAU, Cyril et al. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by nosema ceranae. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 6, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0021550.

VLAHOVIĆ, M.; LAZAREVIĆ, J.; PERIĆ-MATARUGA, V.; ILIJIN, L., &. MRDAKOVIĆ, M. Plastic responses of larval mass and alkaline phosphatase to cadmium in the gypsy moth larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 72, n. 4, p. 1148–1155, 2009.

WHITE, Jonathan W.; SUBERS, Mary H.; SCHEPARTZ, Abner I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. **BBA - Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 73, n. 1, p. 57–70, 1963. DOI: 10.1016/0006-3002(63)90359-7.

WILLIAMSON, Sally M.; WRIGHT, Geraldine A. Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 216, n. 10, p. 1799–1807, 2013. DOI: 10.1242/JEB.083931.

WILSON-RICH, Noah; SPIVAK, Marla; FEFFERMAN, Nina H.; STARKS, Philip T. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 54, n. October, p. 405–423, 2009. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093301.

WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, n. December 2016, p. 96–103, 2017. a. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.

WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, p. 96–103, 2017. b. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.

WOLOWSKI, Marina et al. **Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.4322/978-85-60064-83-0.

YOKOYAMA, Naoaki; HIRATA, Mineo; OHTSUKA, Kenzo; NISHIYAMA, Yukihiro; KEN, Fujii; FUJITA, Masatoshi; KUZUSHIMA, Kiyotaka; KIYONO, Tohru; TSURUMI, Tatsuya. Co-expression of human chaperone Hsp70 and Hsdj or Hsp40 co-factor increases solubility of overexpressed target proteins in insect cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1493, p. 119–124, 2000.

ZHANG, Wenjun; JIANG, Fubin; OU, Jianfeng. Global pesticide consumption and pollution : with China as a focus. **International Academy of Ecology and Environmental Sciences**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 125–144, 2011.

ZHU, Yu Cheng; YAO, Jianxiu; ADAMCZYK, John; LUTTRELL, Randall. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). **PLoS ONE**, [*S. l.*], v. 12, n. 6, p. 1–19, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0178421.

6. Capítulo 3:

O artigo referente a este capítulo será submetido para publicação na *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

Resposta enzimática em abelhas exótica e nativa expostas a agrotóxicos

Tatiane Caroline Grella¹, Adna Suelen Dorigo¹, Daiana Tavares¹, Osmar Malaspina¹,
Roberta Cornélio Ferreira Nocelli².

¹ Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Campus de Rio Claro.

² Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Campus Araras

6.1 Resumo

As abelhas atuam como polinizadoras de plantas cultivadas e silvestres. Existem diferentes tipos de polinizadores, mas abelhas são consideradas as mais importantes devido à sua relação com as flores na busca por alimento. Dentre as abelhas, temos a espécie *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata*, uma abelha social sem ferrão. Durante a polinização em áreas agrícolas, as abelhas podem ficar expostas a diversos produtos químicos, como o inseticida imidacloprido e o herbicida glifosato. Diante dos riscos aos quais as abelhas estão expostas ao longo da sua vida, o sistema imune é de extrema importância para a sua sobrevivência. Uma das formas de entendermos como o sistema imune das abelhas responde a exposição aos agrotóxicos é por meio da análise da atividade de enzimas específicas, que podem ser utilizadas como biomarcadores fisiológicos de exposição. Devido a isso, selecionamos quatro enzimas, a acetilcolinesterase (AChE), a glicose oxidase (GOX), a fenol oxidase (POX) e a fosfatase alcalina (PAL), relacionadas aos processos de desintoxicação e de grande importância para o sistema imune para serem avaliadas *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* expostas ao inseticida imidacloprido e ao herbicida glifosato isolados e combinados (0,0075ng imidacloprido/ μ L e 0,0025ng glifosato/ μ L). Para isso, as abelhas foram coletadas e alimentadas com soluções de sacarose contendo diferentes concentrações de agrotóxicos isolados e combinados (0,0075ng imidacloprido/ μ L e 0,0025ng glifosato/ μ L). Para a realização dos testes, 15 abelhas de cada grupo foram anestesiadas após 48 horas do início da exposição. Em seguida, os abdomens foram retirados e passaram pelo protocolo de extração enzimática, análise em espectrofotômetro e posterior avaliação estatística utilizando o programa Rstudios. Analisando os grupos expostos em relação ao controle, observamos que a espécie *A. mellifera* exposta ao imidacloprido apresentou uma alta na atividade para as enzimas POX e AChE, sendo que essa última também apresentou alta no grupo glifosato. Já o grupo exposto a mistura apresentou uma queda para as enzimas AChE e POX. Para espécie *M. quadrifasciata* observamos um aumento da atividade enzimática em todos os grupos expostos para a enzima AChE e uma queda na modulação da atividade enzimática para o grupo exposto a mistura. Quando comparamos as duas espécies, observamos que, para a AChE e PAL *M. quadrifasciata* apresentou um aumento, já para as enzimas GOX e POX, a espécie *A. mellifera* foi quem apresentou o aumento. A queda na atividade enzimática de alguns grupos analisados neste trabalho

indica que os agrotóxicos estão afetando a atividade das enzimas e causando prejuízos para o sistema imune das abelhas, já a partir da alta na modulação da atividade enzimática podemos inferir que as enzimas são resultado da resposta celular para desintoxicação do organismo, como podemos observar para *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* quando expostas aos agrotóxicos isolados.

Palavras-chave: Acetilcolinesterase, glicose oxidase, fenoloxidase e fosfatase alcalina

6.2 Introdução

As abelhas desempenham um papel fundamental no ecossistema, pois atuam como polinizadoras de plantas cultivadas e silvestres. Diversas dessas plantas participam diretamente da alimentação humana, tanto que em 2018 o valor agregado pela polinização sobre os cultivos agrícolas foi de R\$ 43 bilhões (POTTS et al., 2010; WOLOWSKI et al., 2019). Dentre as abelhas encontradas no Brasil temos a espécie exótica utilizada como modelo nos testes toxicológicos devido ao seu alto número populacional, a facilidade na criação, manejo e manuseio em laboratório, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) (CHAM et al., 2019) e a espécie nativa *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae), a qual não possui ferrão e tem um número menor de indivíduos por colônia quando comparado a *A. mellifera*.

As abelhas sem ferrão são consideradas espécies chave na polinização de ecossistemas tropicais, subtropicais e para importantes culturas agrícolas (HEARD, 1999; SLAA et al., 2006). De acordo com Kerr e colaboradores (1996), as espécies sem ferrão são responsáveis por polinizar de 40 a 90% da vegetação nativa, dependendo do bioma. Assim como as abelhas melíferas, as abelhas sem ferrão também podem ser utilizadas para a polinização de plantas nativas ou cultivadas, porém, são necessários mais estudos para avaliar os riscos que essas abelhas nativas correm quando estão realizando o serviço ecossistêmico de polinização (Cham et al., 2019).

Ao longo da sua vida as abelhas enfrentam diversos fatores bióticos e abióticos, como patógenos, agrotóxicos e parasitas que podem afetar suas funções bioquímicas e fisiológicas, desestabilizando a homeostase e afetando, conseqüentemente, seu sistema imune (COX-FOSTER et al., 2007; MORITZ et al., 2010; HENRY et al., 2012; NAZZI; LE CONTE, 2016). As abelhas podem se expor a diversos agentes quando estão polinizando, dentre eles os agrotóxicos. Ambas as espécies citadas e analisadas no presente estudo estão vulneráveis a diferentes formas de exposição, dentre elas a exposição oral, uma vez que tanto *A. mellifera* quanto *M. quadrifasciata* coletam pólen e néctar que podem estar contaminados com agrotóxicos utilizados nos cultivos agrícolas. A espécie exótica realiza a coleta e armazenamento desse pólen, pois consomem o pólen processado. Já a espécie nativa realiza a coleta e consumo desse pólen ainda novo, o que aumenta o risco de contaminação do indivíduo e da colônia para espécies nativas quando comparadas as exóticas (Cham et al., 2019). Além disso, ambas utilizam o néctar coletado para a produção de mel, principal fonte de carboidratos.

Dentre os agrotóxicos, temos imidacloprido, o inseticida mais utilizado atualmente, sendo aplicado em mais de 40 culturas no Brasil (IBAMA, 2019). Esse inseticida é perigoso para as abelhas devido ao alto risco de alcançarem áreas que contenham colônias de abelhas quando a aplicação ocorre de forma aérea. Devido à possível deriva, a INC nº 1, de 28/12/2012 suspendeu essa forma de aplicação, fato que foi reafirmado no parecer técnico do IBAMA de 2019. O imidacloprido é altamente prejudicial para as abelhas, pois compromete a aprendizagem olfativa, visual, a memória e o forrageamento (DECOURTYE et al., 2004a; HAN et al., 2010; ABBO et al., 2017; MANJON et al., 2018).

Outro agrotóxico utilizado nas culturas brasileiras é o herbicida glifosato, um herbicida teratogênico, genotóxico (POLETTAA et al., 2009) e desregulador endócrino, com efeitos relevantes na contaminação ambiental e mortalidade das abelhas (ANTONIOU et al., 2012; FAITA et al., 2018). Ele é usado no Brasil em culturas como, algodão, café, cana-de-açúcar, citrus, milho, soja, entre outros (ANVISA, 2020). De acordo com evidências científicas, o glifosato pode afetar o voo e a sobrevivência das abelhas. Balbuena e colaboradores (2015a) observaram que abelhas expostas ao glifosato demoram mais para retornar a colônia e Abraham e colaboradores (2018) constataram a mortalidade de diversos indivíduos quando expostos ao glifosato.

Além da aplicação dos agrotóxicos isolados, eles também podem ser aplicados de forma combinada, acarretando em efeitos sinérgicos, ou seja, quando a combinação tem um efeito potencializado em comparação quando os agrotóxicos são usados de forma isolada. Além disso, a mistura pode ter um efeito antagônico, ou seja, as moléculas podem ter seu potencial de ação diminuídos quando usadas em conjunto (LEHNINGER; NELSON; COX, 2007), o que leva ao baixo controle de pragas/plantas daninhas, levando à novas aplicações na busca por um controle mais eficaz. De acordo com Prado F. (2020) que analisou os efeitos dos agrotóxicos abamectina e difenoconazol, isolados e combinados em *Melipona scutellaris*, a mistura desses agrotóxicos causa mais mortalidade de abelhas quando comparada a mortalidade causada pelos agrotóxicos isolados.

Diante dos riscos aos quais as abelhas estão expostas ao longo da sua vida, o sistema imune é de extrema importância para a sobrevivência não só do indivíduo, mas da colônia como um todo. O sistema imune das abelhas é composto por diversas vias de defesa inata baseadas em respostas humorais e celulares, como fagocitose, encapsulamento por melanização, formação de nódulos, entre outros (SCHMID et al.,

2008; WILSON-RICH et al., 2009). A defesa inata desses indivíduos é composta por uma gama complexa de processos baseados no comportamento de higiene, específico das abelhas (WILSON-RICH et al., 2009; ALAUX et al., 2010). Em adição, diversos estudos concluíram que os agrotóxicos afetam a imunidade das abelhas e que a exposição das abelhas a essas moléculas afeta os processos de desintoxicação e de resposta imune do organismo (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; JAMES; XU, 2012; GOULSON, 2013b).

Um das formas de entendermos como o organismo e, principalmente, o sistema imune das abelhas responde a exposição aos agrotóxicos é a análise da atividade enzimática, pois o padrão de resposta enzimática das abelhas pode ser modulado quando as mesmas são expostas à diferentes agrotóxicos, desta forma, elas podem ser utilizadas como biomarcadores fisiológicos de exposição (BADIOU-BÉNÉTEAU et al., 2012). Devido a isso, foram selecionadas quatro enzimas envolvidas nos processos de transmissão do impulso nervoso, acetilcolinesterase (AChE), resposta imune, glicose oxidase (GOX) e fenol oxidase (POX) e, por fim, a desintoxicação metabólica, a fosfatase alcalina (PAL).

A enzima acetilcolinesterase está relacionada com o sistema nervoso das abelhas, uma vez que tem a função de mediar a transmissão do impulso nervoso, hidrolisando a acetilcolina durante as sinapses nervosas (BADIOU et al., 2008). Já a glicose oxidase (GOX), é uma enzima envolvida na produção de ácido glucônico, peróxido de hidrogênio e importante para o sistema imune (LÓPEZ-URIBE; FITZGERALD; SIMONE-FINSTROM, 2017), enquanto que a enzima fenol oxidase (POX) é responsável pela produção de melanina dentro dos mecanismos de defesa, como o encapsulamento mediado por melanização realizado pelas abelhas (SCHMID-HEMPEL, 2005; SIVA-JOTHY; MORET; ROLFF, 2005; WILSON-RICH et al., 2009). Por sua vez, a fosfatase alcalina (PAL) tem função de digestão intracelular, pois atua nos processos de transporte e absorção através da hidrólise do grupo fosfato (MOSS, 1992).

Estudos comprovam que a modulação da atividade enzimática é um bioindicador efetivo para avaliar a resposta ao estresse em abelhas expostas a agrotóxicos (BADIOU-BÉNÉTEAU et al., 2012; BADAUWY; NASR; RABEA, 2015). Dessa forma, o presente trabalho analisou a atividade dessas 4 enzimas relacionadas aos processos de desintoxicação e de grande importância para o sistema imune após 48 horas da exposição das espécies *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* a concentrações subletais dos agrotóxicos imidacloprido e glifosato, isolados e combinados.

6.3 Material e método

A coleta das abelhas e exposição ao inseticida imidacloprido e ao herbicida glifosato foram descritos anteriormente.

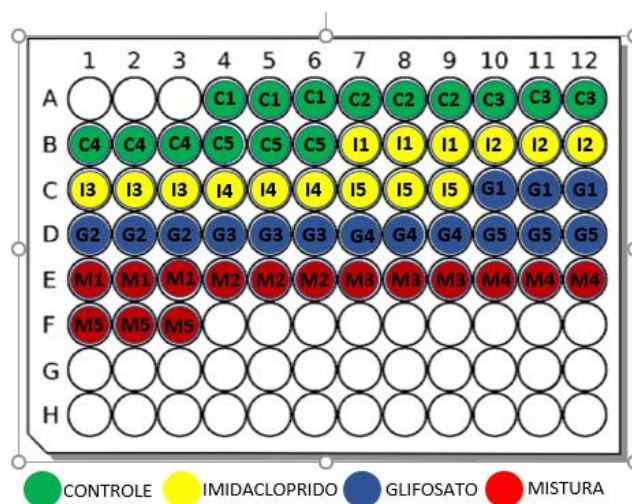
6.3.1 Análise das atividades enzimáticas

Após 48 horas da exposição a concentrações subletais do imidacloprido e do glifosato (0,0075ng imidacloprido/ μ L e 0,0025ng glifosato/ μ L) de forma isolada e combinada, foram coletados 15 abdomens de cada grupo experimental, alocados em 5 tubos plásticos, sendo que cada tubo continha, 3 abdomens, das espécies *A. mellifera* e *M. quadrifasciata*, dos quais a atividade das enzimas AChE, GOX, POX e PAL foram analisadas.

Os tubos plásticos foram pesados antes e depois de colocarmos os abdomens, para sabermos exatamente qual era o peso e podermos dosar o tampão de extração. Após a segunda pesagem, as amostras foram homogeneizadas utilizando o equipamento L-Beater (5x10s a 30Hz) em solução de extração (40mM de tampão fosfato, 10mM de NaCl a pH 7,4, 1% de triton X-100 e 150uL de inibidor 200x) calculada previamente com base no peso dos órgãos utilizados. Em seguida os extratos foram centrifugados a 15,000g durante 20 minutos, após esse tempo o sobrenadante foi coletado e dividido em 5 tubos plásticos para a montagem da microplaca de 96 poços.

A microplaca de 96 poços foi montada a partir de 5 réplicas de cada grupo, sendo que cada réplica tinha a sua triplicata (Figura 1), dessa forma foram utilizados 15 poços da placa para cada grupo analisado.

Figura 1: Esquema representativo da placa de 96 poços com os respectivos substratos do tecido do abdômen de *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* após 48 horas da exposição. Autoria própria.



Após a montagem da placa com o meio extraído dos abdomens, colocamos o meio reacional para analisar a atividade de cada enzima. Todo o processo de extração foi realizado a 4° C.

Cada meio reacional é preparado da seguinte forma:

- AChE foi avaliada a 412nm através de 5 µL de extrato de tecido com 0,3 mM acetilcolina iodo, 1,5 mM de DTNB e 100 mM de tampão fosfato de sódio pH 7,0.
- GOX foi avaliada 430nm através de 10uL de extrato de tecido com 125 mM de tampão KH₂PO₄ a pH7, 100 mM de glucose, 2,5U/200uL de peroxidase e 0,3 mM de O-dianisidine.
- POX foi avaliada a 490nm através de 50uL de extrato de tecido com 10 mM de tampão NaH₂PO₄, 20 mM de NaCl a pH 7,2 e 0,4 mg/mL de L-dopa.
- PAL foi avaliada a 410nm através 10uL de extrato de tecido com 20 µM de MgCl₂, 2 mM de p-nitrofenil fosfato como substrato e 100 mM de tampão tris-HCL pH 8,5.

Após o preparo do meio reacional e aplicação na microplaca de 96 poços, os ensaios enzimáticos foram medidos em espectrofotômetro (Molecular Devices). Durante

as leituras no equipamento a temperatura era constante, de 25° C Para todas as enzimas o tempo de análise foi de 5 minutos e o volume final dos poços da placa de 200uL.

6.3.2 Análise estatística

Os dados originais ou transformados pelo método de Box-Cox (1964) não atenderam as pressuposições do modelo da análise de variância (normalidade e homogeneidade). Dessa forma, fez-se uso do teste de comparação das medianas. O procedimento utilizado consiste em um teste não paramétrico para múltiplas amostras independentes. Em resumo, o teste da mediana, que é disponibilizado pela função `median.test` do pacote “*agricolae*” (Mendiburu et al., 2019) do programa R (R Core Team, 2021) é projetado para examinar se várias amostras vieram de populações com a mesma mediana.

6.4 Resultados

A partir das análises realizadas observamos que a atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) para a espécie *A. mellifera* não apresentou diferença estatística entre o controle e os demais grupos, porém houve diferença significativa entre os grupos glifosato e imidacloprido em relação ao grupo exposto a mistura, e a atividade enzimática do grupo imidacloprido foi a mais alta quando comparada aos demais grupos. Enquanto para a espécie *M. quadrifasciata*, o grupo controle apresentou a menor taxa de atividade enzimática e diferiu estatisticamente dos grupos glifosato e mistura. Quando comparamos as duas espécies dentro de cada um dos grupos, observamos que houve diferença significativas apenas para o grupo exposto a mistura (Figura 2 e 6; Tabela 1).

Figura 2: Boxplot mostrando a atividade enzimática da Acetilcolinesterase. *Apis mellifera* em vermelho e *Melipona quadrifasciata* em azul, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. As comparações foram feitas entre os grupos para ambas as espécies e entre as espécies. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações entre os grupos para a mesma espécie) e maiúsculas (comparações entre as espécies para cada grupo) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

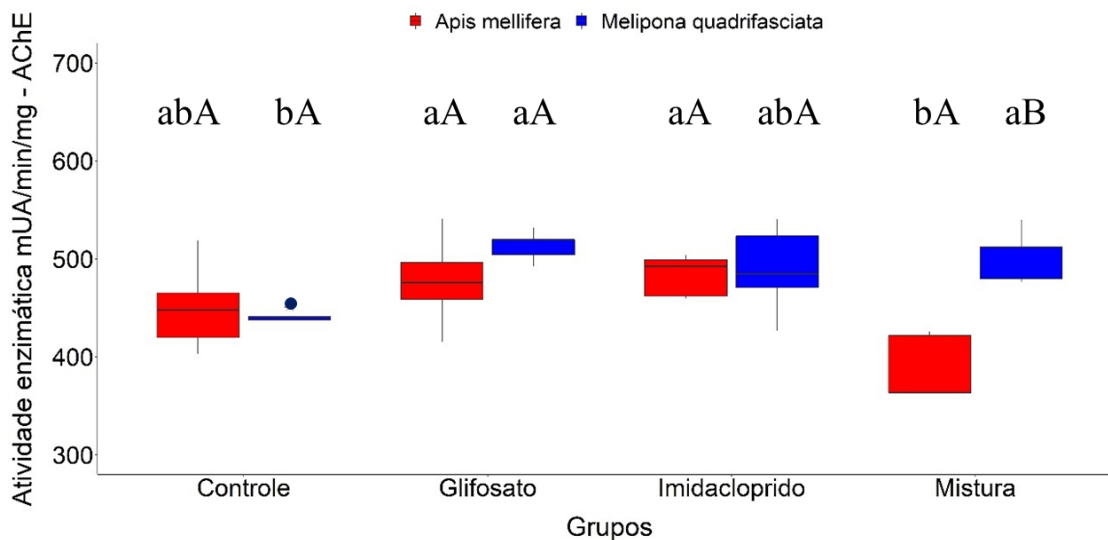


Tabela 1: Modulação da enzima AChE (mUA/min/mg) no abdômen de *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata*, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações dentro das colunas) e maiúsculas (comparações dentro das linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

Grupos	Espécies	
	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Controle	450.9 ± 44.9 abA	441.6 ± 5.4 bA
Glifosato	477.3 ± 46.4 aA	513.6 ± 15.4 aA
Imidacloprido	483.3 ± 21.2 aA	489.1 ± 44.8 abA
Mistura	387.5 ± 33.2 bA	504 ± 26.1 aB

Para a enzima glicose oxidase (GOX) observamos que não houve diferença estatística quando comparamos a espécie *A. mellifera* exposta a diferentes grupos e nem quando comparamos a espécie *M. quadrifasciata* exposta ao inseticida e ao herbicida isolados e combinados. Quando comparamos as duas espécies dentro de cada grupo observamos diferença estatística para os grupos controle e glifosato, sendo que a espécie exótica apresentou uma modulação enzimática um pouco mais elevada quando comparada a espécie nativa (Figura 3 e 6; Tabela 2).

Figura 3: Boxplot mostrando a atividade enzimática da glicose oxidase. *Apis mellifera* em vermelho e *Melipona quadrifasciata* em azul, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. As comparações foram feitas entre os grupos para ambas as espécies e entre as espécies. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações entre os grupos para a mesma espécie) e maiúsculas (comparações entre as espécies para cada grupo) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

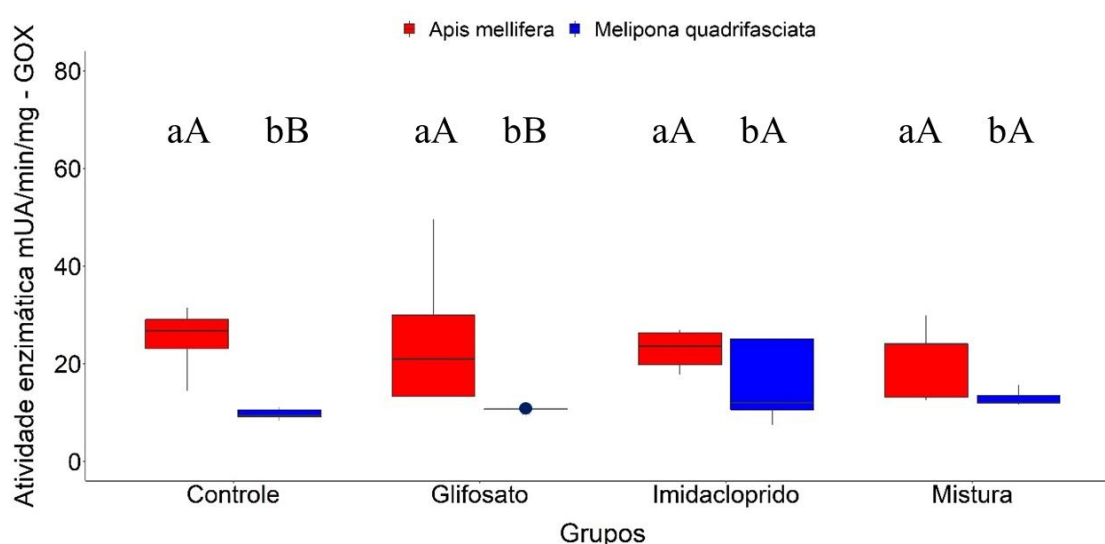


Tabela 2: Modulação da enzima GOX (mUA/min/mg) no abdômen de *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata*, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações dentro das colunas) e maiúsculas (comparações dentro das linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

Grupos	Espécies	
	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Controle	25.1 ± 6.6 aA	9.7 ± 1.1 bB
Glifosato	25.4 ± 15.1 aA	10.7 ± 0.2 bB
Imidacloprido	22.9 ± 4.1 aA	16.1 ± 8.4 bA
Mistura	20.7 ± 7.6 aA	13.1 ± 1.7 bA

Para a enzima POX foi possível observar uma diferença estatística entre o grupo exposto a mistura e o grupo exposto ao imidacloprido para a espécie *A. mellifera*. Quando comparamos o controle aos demais grupos, não observamos diferença estatística entre eles. Para a espécie *M. quadrifasciata* não observamos diferença significativa entre os grupos. Por outro lado, quando compramos ambas as espécies dentro de cada grupo, foi possível observar diferença estatística entre todos os grupos, ocorrendo uma expressão mais alta da enzima fenol oxidase para a espécie *A. mellifera* quando comparada a espécie *M. quadrifasciata* (Figura 4 e 6; Tabela 3).

Figura 4: Boxplot mostrando a atividade enzimática da fenol oxidase. *Apis mellifera* em vermelho e *Melipona quadrifasciata* em azul, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. As comparações foram feitas entre os grupos para ambas as espécies e entre as espécies. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações entre os grupos para a mesma espécie) e maiúsculas (comparações entre as espécies para cada grupo) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

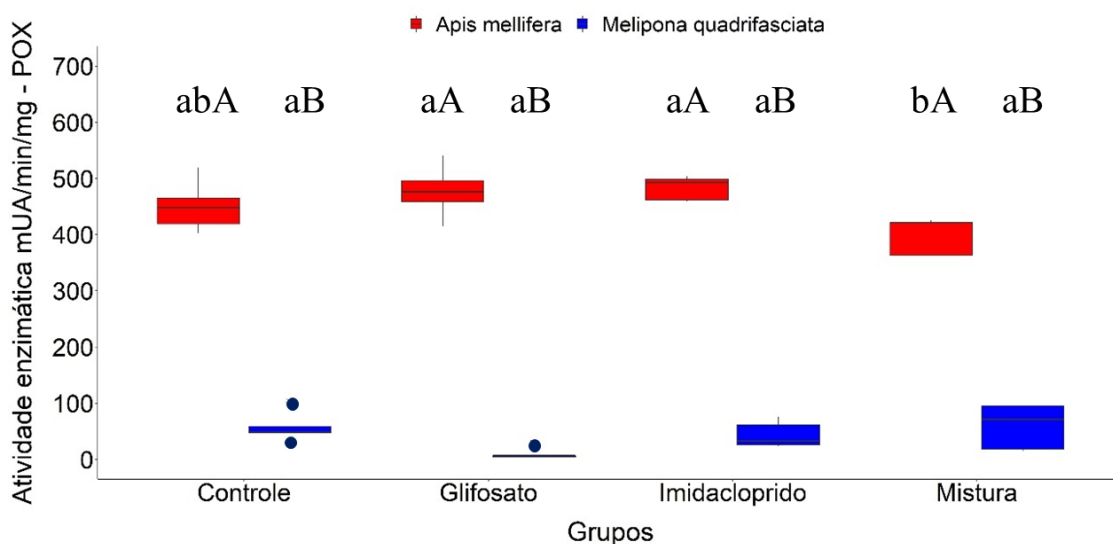


Tabela 3: Modulação da enzima POX (mUA/min/mg) no abdômen de *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata*, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações dentro das colunas) e maiúsculas (comparações dentro das linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

Grupos	Espécies	
	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Controle	451.1 \pm 45.1 abA	57.3 \pm 26.8 aB
Glifosato	477.3 \pm 46.4 aA	9.5 \pm 10.1aB
Imidacloprido	484.3 \pm 21.2 aA	44 \pm 23.4 aB
Mistura	399.1 \pm 32.8 bA	59.1 \pm 40.1 aB

Para a enzima PAL observamos que não houve diferença estatística entre os grupos da espécie *A. mellifera*. Porém, houve uma diferença significativa quando comparamos a atividade enzimática da espécie *M. quadrifasciata* para o grupo mistura em relação aos grupos imidacloprido e controle, sendo que a atividade da enzima fosfatase alcalina foi mais baixa para o grupo exposto a mistura. Em relação a comparação entre as duas espécies observamos uma diferença estatística para todos os grupos e uma atividade enzimática mais elevada para a espécie nativa quando comparada a espécie exótica (Figura 5 e 6; Tabela 4).

Figura 5: Boxplot mostrando a atividade enzimática da fosfatase alcalina. *Apis mellifera* em vermelho e *Melipona quadrifasciata* em azul, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. As comparações foram feitas entre os grupos para ambas as espécies e entre as duas espécies. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações entre os grupos para a mesma espécie) e maiúsculas (comparações entre as espécies para cada grupo) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

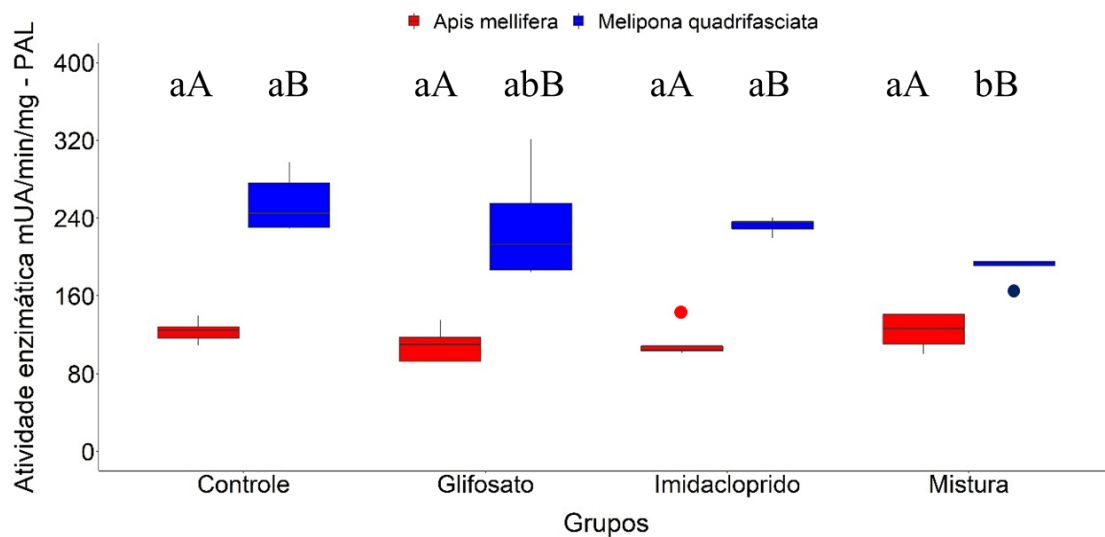


Tabela 4: Modulação da enzima PAL (mUA/min/mg) no abdômen de *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata*, após 48 horas de exposição aos agrotóxicos imidacloprido (0,0075ng imidacloprido/ μ L) e do glifosato (0,0025ng glifosato/ μ L) por via oral. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas (comparações dentro das colunas) e maiúsculas (comparações dentro das linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

Grupos	Espécies	
	<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona quadrifasciata</i>
Controle	123.6 ± 11.6 aA	255.7 ± 30.1 aB
Glifosato	109.4 ± 18.1 aA	232.2 ± 57.4 abB
Imidacloprido	112.3 ± 18.2 aA	233.1 ± 8.3 aB
Mistura	123.7 ± 18.2 aA	188.1 ± 12.1 bB

Figura 6: Comparação da modulação da atividade enzimática entre as duas espécies para todas as enzimas analisadas.

Espécies	AChE	GOX	POX	PAL
<i>Apis mellifera</i>	-	↑ C e G	↑ C; G; I e M	-
<i>Melipona quadrifasciata</i>	↑ M	-	-	↑ C; G; I e M

6.4 Discussão

A partir dos resultados obtidos, pudemos observar que a exposição das espécies *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* ao neonicotinóide imidacloprido e ao herbicida glifosato isolados e combinados causam alterações na modulação das atividades enzimáticas.

A partir da análise dos resultados, obtidos para AChE, que foi analisada no abdômen, devido a presença do vaso dorsal e da placa motora no mesmo, podemos observar que para a espécie exótica *A. mellifera* a enzima AChE apresentou um aumento de atividade no abdômen para os grupos expostos ao glifosato e ao imidacloprido quando comparados ao controle. Esse aumento reflete a resposta do sistema nervoso do indivíduo, uma vez que a enzima (AChE) atua principalmente hidrolisando a acetilcolina interrompendo o estímulo da acetilcolina e conseqüente volta dos neurônios e músculos para o estado de repouso após a transmissão do impulso nervoso. O aumento da AChE pode ser explicado pelo processo de feedback positivo, uma vez que quando ela não consegue degradar a molécula de agrotóxico, o organismo “entende” que é necessário

sintetizar mais. Dessa forma para estes grupos a exposição aos agrotóxicos isolados causa um aumento na passagem do impulso nervoso, o que pode levar a abelha a morrer por hiperexcitação, uma vez que o inseticida imidacloprido se liga aos receptores do impulso nervoso e promove a passagem contínua do mesmo (BUCKINGHAM et al., 1997; SUCHAIL; DEBRAUWER; BELZUNCES, 2004). Outros trabalhos também constataram aumento na atividade de AChE quando expostas ao inseticida imidacloprido. Soares (2017) que analisou abelhas da espécie *A. mellifera* expostas a concentrações de imidacloprido e infectados por *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae) e observaram um aumento na atividade da AChE, concluindo que estava ocorrendo um acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, uma vez que o inseticida imidacloprido se liga aos receptores nicotínicos.

Já o aumento na modulação da AChE para o grupo exposto ao glifosato pode estar relacionado com a resposta do organismo em continuar hidrolisando a acetilcolina, uma vez que o herbicida glifosato interfere na síntese dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano (HRAC 2017), sendo os dois primeiros, pertencentes a sequência de aminoácidos da enzima AChE (Danial, 2004; Dvir, 2010). Dessa forma a presença de moléculas do glifosato pode estar provocando uma alteração na modulação dessa enzima, de forma que o organismo tenta aumentar a atividade, para suprir o déficit.

O grupo exposto a mistura levou a uma queda na modulação da atividade enzimática da AChE, quando analisados nos abdomens de *A. mellifera*, o que pode ser indício de que não está ocorrendo a hidrolização da acetilcolina, uma vez que as moléculas de imidacloprido estão ligados aos canais de passagem do impulso nervoso e pode levar o inseto a morte, devido a passagem constante do impulso nervoso (BADAWY; NASR; RABEA, 2015). Dessa forma, podemos inferir que quando a espécie exótica é exposta a mistura do inseticida imidacloprido e do herbicida glifosato a atividade da enzima acetilcolinesterase fica comprometida, o que pode ser prejudicial não só para o indivíduo, mas a colônia como um todo. Além de afetar o processo de hidrolização da acetilcolina, a queda na atividade da AChE pode provocar alterações nas funções motoras e no comportamento das abelhas, uma vez que ela está envolvida em processos de aprendizagem e memória (GAUTHIER et al., 1992; WILLIAMSON; WRIGHT, 2013).

A redução na atividade de AChE também foi constatada por Badawy e colaboradores (2015) quando analisaram a atividade dessa enzima em *A. mellifera* exposta a quatro diferentes inseticidas. Outro estudo realizado por Han e colaboradores

(2019), avaliou o acetamiprido combinado com o fungicida propiconazol e constataram que a atividade da enzima AChE não foi afetada pela presença de agrotóxicos na alimentação das abelhas durante cinco dias de exposição.

Além de ter relação com o sistema nervoso das abelhas, as enzimas analisadas GOX e POX estão diretamente relacionadas com o sistema imune das abelhas, (WHITE; SUBERS; SCHEPARTZ, 1963; LOVALLO; COX-FOSTER;; L, 1999). No presente estudo, a enzima GOX não apresentou diferença estatística em relação a nenhum grupo quando comparado ao controle para ambas as espécies, podendo indicar que a exposição de *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* a concentrações subletais de imidacloprido e glifosato isolados e combinados não causaram alterações na atividade enzimática da enzima GOX. Isso pode ter ocorrido por diversos fatores entre eles, o tempo de exposição ter sido curto ou a concentração dos agrotóxicos ter sido baixa.

As concentrações utilizadas no presente trabalho são consideradas concentrações subletais, ou seja, não acarretam em morte, mas tem a capacidade de causar diversos danos. A enzima Glicose oxidase tem como principal função catalisar a produção de peróxido de hidrogênio para que os produtos da colônia (mel e própolis) possam ser esterilizados, participando assim da imunidade social (ALAUX et al., 2010; BUCEKOVA et al., 2014), o que nos leva a inferir que nas concentrações e tempos analisados no presente trabalho a imunidade social das abelhas, que é de forma geral a capacidade delas manterem a colônia limpa, não foi afetada, uma vez que a enzima GOX não apresentou alteração na atividade tanto para *A. mellifera* quanto para *M. quadrifasciata*.

Almasri e colaboradores (2021) analisaram a atividade da enzima GOX após expor as abelhas *A. mellifera* ao parasita *N. ceranae* e a difeconazol ocorrendo uma queda na atividade da enzima GOX, indicando que a presença de múltiplos estressores pode afetar a resposta do sistema imune das abelhas. Enquanto Reeves e colaboradores (2018) observaram aumento na atividade da enzima GOX ao expôs *A. mellifera* a diversos acaricidas, o que, segundo os autores, sugere que a exposição induziu uma resposta do sistema imune social das abelhas.

Em relação aos resultados da enzima POX, no presente trabalho notamos que não houve diferença significativa da atividade dessa enzima quando comparamos os grupos expostos em relação ao controle para ambas as espécies. Porém, em *A. mellifera* ocorre uma queda na atividade da enzima no grupo exposto a mistura quando comparado ao grupo exposto ao imidacloprido isolado, o que indica que a mistura do herbicida glifosato

aumentou os danos causados pelo Imidacloprido isolado, afetando a atividade da enzima fenol oxidase e, conseqüentemente, seu sistema imune, uma vez que a avaliação da atividade dessa enzima pode ser considerada uma forma de analisar a imunocompetência das abelhas, pois ela é responsável por processos como melanização (união de hemócitos) e cicatrização (LAUGHTON; BOOTS; SIVA-JOTHY, 2011; GONZÁLEZ-SANTOYO; CÓRDOBA-AGUILAR, 2012).

A partir dos dados encontrados no presente trabalho e na literatura podemos observar que a exposição das espécies a misturas de agrotóxicos pode ser prejudicial para o indivíduo, porém é uma prática realizada com frequência no campo para reduzir o tempo e os custos de aplicação (TORNISIELO et al., 2013). Essas misturas podem ter diversos efeitos nas abelhas, que são organismos não-alvo, como efeitos sinérgicos (SGOLASTRA et al., 2016; ZHU et al., 2017). Os resultados do presente trabalho corroboram com estudos encontrados na literatura, como Gregory e colaboradores (2022) que analisaram a atividade da enzima POX e constataram que houve uma queda na atividade enzimática em abelhas *A. mellifera* quando expostas a fatores agrotóxicos.

O presente trabalho analisou ainda a atividade da enzima fosfatase alcalina (PAL), a qual também desenvolve funções no sistema imune, assim como mecanismos de transporte e processos metabólicos (VLAHOVIĆ et al., 2009; CHEN et al., 2011). Não foi evidenciada diferença na modulação da PAL entre os grupos de *A. mellifera*, porém houve diferenças estatísticas entre os grupos da espécie *M. quadrifasciata*, uma vez que a atividade da PAL no grupo exposto a mistura foi menor quando comparado aos grupos controle e imidacloprido.

Novamente podemos notar que a mistura de agrotóxicos é prejudicial para a espécie nativa, uma vez que com a queda na atividade enzimática da PAL, processos como transporte de compostos através da membrana (DIMITRIADIS; KASTRITSIS, 1985), absorção de nutrientes (CRUZ-LANDIM; MELO CAVALCANTE, 2003), captação de lipídeos, entre outros (CABRERO et al., 2004; ROBERT et al., 2013) podem ficar prejudicados. De acordo com Carneiro e colaboradores (2018) as espécies *M. quadrifasciata* e *A. mellifera* apresentam enzimas PAL em vesículas que estão localizadas no citoplasma de células do intestino, as quais podem estar relacionadas com o armazenamento de substâncias tóxicas (LIPOVŠEK; JANŽEKOVIČ; NOVAK, 2017). Dessa forma, a queda na atividade da PAL pode ser indício de deficiência no armazenamento de substâncias tóxicas, como os agrotóxicos, o que prejudicaria o organismo, uma vez que essas moléculas estariam circulantes.

De modo geral as enzimas analisadas neste estudo são de extrema importância para a sobrevivência das abelhas e conseqüentemente para a manutenção do ecossistema. Os dados na literatura sobre a ação e os efeitos dos agrotóxicos sobre as enzimas das abelhas nativas ainda são escassos, por isso é fundamental mais estudos sobre os efeitos dessas moléculas em todo o sistema enzimático nesses organismos. A partir dos dados encontrados neste trabalho podemos concluir que o grupo mais afetado foi o exposto a mistura, tanto para a espécie exótica quanto para a espécie nativa e também que existe uma diferença na atividade enzimática entre as duas espécies, porém mais trabalhos são necessários para entendermos quais os reais impactos dos agrotóxicos nas enzimas das abelhas.

6.6 Agradecimentos

Processo nº 2017/21097-3 e 2019/20109-3, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

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

6.6 Referências Bibliográficas

ABBO, Pendo M.; KAWASAKI, Joshua K.; HAMILTON, Michele; COOK, Steven C.; DEGRANDI-HOFFMAN, Gloria; LI, Wen Feng; LIU, Jie; CHEN, Yan Ping. Effects of Imidacloprid and Varroa destructor on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*. **Insect Science**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 467–477, 2017. DOI: 10.1111/1744-7917.12335.

ABDALLA, Fábio Camargo; DOMINGUES, Caio Eduardo da Costa. Hepato-Nephrotic System : A Novel Model of Biomarkers for Analysis of the Ecology of Stress in Environmental Biomonitoring. **Plos One**, [S. l.], p. 1–9, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0132349.

ABRAHAM, J.; BENHOTONS, G. S.; KRAMPAH, I.; TAGBA, J.; AMISSAH, C., &. ABRAHAM, J. D. Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. **Entomologia experimentalis et applicata**, [S. l.], v. 166, n. 8, p. 695–702, 2018.

ADAMO, S. A. Why should an immune response activate the stress response? Insights from the insects (the cricket *Gryllus texensis*). **Brain, Behavior, and Immunity**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 194–200, 2010. DOI: 10.1016/j.bbi.2009.08.003.

AENDA., ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS –. Mistura em tanque. **Caderno AENDA**, [S. l.], v. 1, p. 1–11, 2011.

ALAUX, Cédric et al. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 774–782, 2010. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.

ALAUX, Cédric; CRAUSER, Didier; PIOZ, Maryline; SAULNIER, Cyril; LE CONTE, Yves. Parasitic and immune modulation of flight activity in honey bees tracked with optical counters. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, n. 19, p. 3416–3424, 2014. DOI: 10.1242/jeb.105783.

ALMASRI, Hanine et al. Physiological effects of the interaction between *Nosema ceranae* and sequential and overlapping exposure to glyphosate and difenoconazole in the honey bee *Apis mellifera*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 217, n. October 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112258.

ALQARNI, Abdulaziz S.; ALI, Hussain; IQBAL, Javid; OWAYSS, Ayman A.; SMITH, Brian H. Expression of heat shock proteins in adult honey bee (*Apis mellifera* L.) workers under hot-arid subtropical ecosystems. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 26, n. 7, p. 1372–1376, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.08.017.

ALTINCICEK, Boran; KNORR, Eileen; VILCINSKAS, Andreas. Beetle immunity: Identification of immune-inducible genes from the model insect *Tribolium castaneum*. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 585–595, 2008. DOI: 10.1016/j.dci.2007.09.005.

ALVES, Stênio Nunes; SERRÃO, José Eduardo;; MELO, Alan Lane. Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 592–597, 2010.

AMIRESSAMI, Mohsen. Verhalten der Mycetozellen nach Insectizid-Einwirkung bei *Pemphigus bursarius* L.(Aphidina). **Anzeiger für Schädlingkunde, Pflanzen-und Umweltschutz**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 52–55, 1973.

ANTONIOU, M.; HABIB, MEM; HOWARD, CV; JENNINGS, RC; C LEIFERT, RO; NODARI, CJ; AND, Robinson7; FAGAN, J. Teratogenic Effects of Glyphosate-Based Herbicides: Divergence of Regulatory Decisions from Scientific Evidence. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 01, n. S4, 2012. DOI: 10.4172/2161-0525.s4-006.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice monográfico – G01 – Glifosato**. [s.d.]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/G01%2B%2BGlifosato.pdf/6a549ab8-990c-4c6b-b421-699e8f4b9ab4>. Acesso em: 27 jun. 2022.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. NOTA TÉCNICA N° 23. [S. l.], 2018.

ARMSTRONG, Peter B.; MELCHIOR, Ralph; QUIGLEY, James P. Humoral immunity in long-lived arthropods. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 53–64, 1996. DOI: 10.1016/0022-1910(95)00082-8.

ARRESE, Estela L.; SOULAGES, Jose L. INSECT FAT BODY: ENERGY, METABOLISM, AND REGULATION. **Annu Rev Entomol.**, [S. l.], v. 55, p. 207–225, 2010. DOI: 10.1146/annurev-ento-112408-085356.

ARRIGO, André Patrick. Human small heat shock proteins: Protein interactomes of homo- and hetero-oligomeric complexes: An update. **FEBS Letters**, [S. l.], v. 587, n. 13, p. 1959–1969, 2013. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.05.011.

AZEVEDO, Patricia; BUTOLO, Nicole Pavan; DE ALENCAR, Luciano Delmondes; SOARES-LIMA, Hellen Maria; SALES, Victor Ribeiro; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Standardization of in vitro nervous tissue culture for honeybee: A high specificity toxicological approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 189, n. September 2019, 2020. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.110040.

BADAWY, Mohamed E. I.; NASR, Hoda M.; RABEA, Entsar I. Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 177–193, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0315-0.

BADIOU-BÉNÉTEAU, Alexandra; CARVALHO, Stephan M.; BRUNET, Jean Luc; CARVALHO, Geraldo

A.; BULETÉ, Audrey; GIROUD, Barbara; BELZUNCES, Luc P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 82, p. 22–31, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 218, n. 17, p. 2799–2805, 2015. a. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie-Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **The Company of Biologists**, [S. l.], p. 2799–2805, 2015. b. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALSAMO, P. J.; DOMINGUES, C. E. D. C.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. D., GREGORC, A.; IRAZUSTA, S. P.; SALLA, R. F.; ABDALLA, F. C. Impact of sublethal doses of thiamethoxam and *Nosema ceranae* inoculation on the hepato-nephrotic system in young Africanized *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 350–361, 2020.

BASHA, Eman; O'NEILL, Heather; VIERLING, Elizabeth. Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. **Trends Biochem Sci.**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 106–117, 2012. DOI: 10.1016/j.tibs.2011.11.005.

BIERKENS, Johan G. E. A. Applications and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. **Toxicology**, [S. l.], v. 153, n. 1–3, p. 61–72, 2000. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00304-8.

BLACQUIÈRE, Tjeerd; SMAGGHE, Guy; VAN GESTEL, Cornelis A. M.; MOMMAERTS, Veerle. Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012. DOI: 10.1007/s10646-012-0863-x.

BOWEN, ID; MORGAN, SM; -, K. Mullarkey. Cell death in the salivary glands of metamorphosing *Calliphora vomitoria*. **Cell biology international**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 13–34, 1993.

BOŻENA, SZYMAŚA; JĘDRUSZUKB, Andrzej. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. **Apidologie**, [S. l.], v. 34, p. 97–102, 2003. DOI: 10.1051/apido:2003012.

BPBES. **Relatório Temático sobre Polinização , Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil**. [s.l: s.n.].

BRANDT, Annely; GORENFLO, Anna; SIEDE, Reinhold; MEIXNER, Marina; BÜCHLER, Ralph. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 86, p. 40–47, 2016. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.01.001.

BRANDT, Annely; GRIKSCHIT, Katharina; SIEDE, Reinhold; GROSSE, Robert; MEIXNER, Marina Doris; BÜCHLER, Ralph. Immunosuppression in Honeybee Queens by the Neonicotinoids Thiacloprid and Clothianidin. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-04734-1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 46, de 24 de julho de 2002. Determina às empresas titulares de registros de agrotóxicos a retirada das indicações de misturas em tanque dos rótulos e bulas de seus agrotóxicos. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 4074 que regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providências. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. b.

BROSI, Berry J.; BRIGGS, Heather M. Single pollinator species losses reduce floral fidelity and plant reproductive function. **PNAS**, [S. l.], v. 110, n. 32, p. 13044–13048, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1307438110.

BUCEKOVA, M.; VALACHOVA, I.; KOHUTOVA, L.; PROCHAZKA, E.; KLAUDINY, J., &. MAJTAN, J. Honeybee glucose oxidase—its expression in honeybee workers and comparative analyses of its content and H₂O₂-mediated antibacterial activity in natural honeys. **Naturwissenschaften**, [S. l.], v. 101, n. 8, p. 661–670, 2014.

BUCKINGHAM, S. D.; LAPIED, B.; LE CORRONC, H.; GROLLEAU, F.; SATTELLE, D. B. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 200, n. 21, p. 2685–2692, 1997. DOI: 10.1242/jeb.200.21.2685.

BULET, Phillippe; HETRU, Charles; DIMARCO, Jean-Luc; HOFFMANN, Danièle Le. Antimicrobial peptides in insects ; structure and function. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 23, p. 329–344, 1999.

BUTOLO, N. P.; AZEVEDO, P.; ALENCAR, L. D.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Impact of low temperatures on the immune system of honeybees. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 101, n. September, p. 103082, 2021. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2021.103082.

C, Hetru; D, Hoffmann; P, Bulet. Antimicrobial peptides from insects. *In: Molecular mechanisms of immune response in insects*. London: Chapman and Hal, 1998. p. 40–66.

CABRERO, Pablo; POLLOCK, Valerie P.; DAVIES, Shireen A.; DOW, Julian A. T. A conserved domain of alkaline phosphatase expression in the Malpighian tubules of dipteran insects. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 207, n. 19, p. 3299–3305, 2004. DOI: 10.1242/jeb.01156.

CAMPBELL, J. B.; NATH, R.; GADAU, J.; FOX, T.; DEGRANDI-HOFFMAN, G., & HARRISON, J. F. The fungicide Pristine® inhibits mitochondrial function in vitro but not flight metabolic rates in honey bees. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 86, p. 11–16, 2016.

CAPELLA, Ines C. Schmid.; HARTFELDER, Klaus. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 44, n. 5–6, p. 385–391, 1998. DOI: 10.1016/S0022-1910(98)00027-4.

CARNEIRO, Lenise Silva; TEIXEIRA, Stéphanie Asséf Millen Valente; GONÇALVES, Wagner Gonzaga; FERNANDES, Kenner Moraes; ZANUNCIO, José Cola; SERRÃO, José Eduardo. Histochemistry, immunohistochemistry and cytochemistry of the anterior midgut region of the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Micron**, [S. l.], v. 113, n. June, p. 41–47, 2018. DOI: 10.1016/j.micron.2018.06.017.

CASIDA, John E.; DURKIN, Kathleen A. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 58, p. 99–117, 2013. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153645.

CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornelio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy research and technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. a.

CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornélio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. b. DOI: 10.1002/jemt.22339.

- CHAM, Karina O. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. **Environmental Entomology**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 36–48, 2019. DOI: 10.1093/ee/nvy137.
- CHAN, Queenie W. T.; HOWES, Charles G.; FOSTER, Leonard J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. **Molecular and Cellular Proteomics**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 2252–2262, 2006. DOI: 10.1074/mcp.M600197-MCP200.
- CHAPMAN, Reginald Frederick. The insects: structure and function. **Cambridge university press**, [S. l.], 2013.
- CHEN, Kathryn T. et al. A Role for Intestinal Alkaline Phosphatase in the Maintenance of Local Gut Immunity. **Dig Dis Sci**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 1020–1027, 2011. DOI: 10.1007/s10620-010-1396-x.
- CLARE, Daniel K.; SAIBIL, Helen R. ATP-driven molecular chaperone machines. **Biopolymers**, [S. l.], v. 99, n. 11, p. 846–859, 2013. DOI: 10.1002/bip.22361.
- CLAUDIANOS, C.; RANSON, H.; JOHNSON, R. M.; BISWAS, S.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R.; FEYEREISEN, R.; OAKESHOTT, J. G. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 615–636, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x.
- COSTA, L. M.; GRELLA, T. C.; BARBOSA, R. A.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015. DOI: 10.13102/sociobiology.v62i4.792.
- COUSIN, Marianne; SILVA-ZACARIN, Elaine; KRETZSCHMAR, André; EL MAATAOUI, Mohamed; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Size Changes in Honey Bee Larvae Oenocytes Induced by Exposure to Paraquat at Very Low Concentrations. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0065693.
- COUTURE, G.; LEGRIS, J.; LANGEVIN, R. Evaluation des impacts du glyphosate utilise dans le milieu forestier. **Ministere des Ressources Naturelles, Direction de Penvironnement forestier, Service du suivi environnemental, Charlesbourg, Quebec, Canada.**, [S. l.], 1995.
- COX-FOSTER, Diana L. et al. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. **Science**, [S. l.], v. 318, n. 5848, p. 283–287, 2007. DOI: 10.1126/science.1146498.
- CRAUSER, Didier; CONTE, Yves Le; ALAUX, Cédric; DUCLOZ, François. Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters**, [S. l.], v. 45, n. January, p. 562–565, 2010.
- CREMER, Sylvia; ARMITAGE, Sophie A. O.; SCHMID-HEMPE, Paul. Social Immunity. **Current Biology**, [S. l.], v. 17, p. 693–702, 2007. DOI: 10.1016/j.cub.2007.06.008.
- CRUZ-LANDIM, Carminda Da. Abelhas: morfologia e função de sistemas. [S. l.], 2009.
- CRUZ-LANDIMM, C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. UNESP ed. São Paulo. DOI: 10.7476/9788539304301.
- DA COSTA, Leticia Mariano; GRELLA, Tatiane Caroline; BARBOSA, Rodrigo Avelaira; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015.
- DA CRUZ-LANDIM, C. O corpo gorduroso da larva de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Apidae, Meliponinae). **Naturalia (São José do Rio Preto)**, [S. l.], v. 8, p. 7–23, 1983.

DA CRUZ-LANDIM, Carminda; MELO CAVALCANTE, Vagner. Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Metamorphosis in the Midgut of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae: Apinae). **Zoological Science**, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 1099–1107, 2003. DOI: 10.2108/zsj.20.1099.

DA CRUZ LANDIM, Carminda. **Abelhas**. [s.l.: s.n.].

DAVID, Arthur; BOTÍAS, Cristina; ABDUL-SADA, Alaa; GOULSON, Dave; HILL, Elizabeth M. Sensitive determination of mixtures of neonicotinoid and fungicide residues in pollen and single bumblebees using a scaled down QuEChERS method for exposure assessment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 407, p. 26, 2015. DOI: 10.1007/s00216-015-8986-6.

DE ALMEIDA ROSSI, Caroline; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOLOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Effects of sublethal doses of imidacloprid in malpighian tubules of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 76, n. 5, p. 552–558, 2013. DOI: 10.1002/jemt.22199.

DE ASSIS, J. C.; DA COSTA DOMINGUES, C. E.; TADEI, R.; DA SILVA, C. I.; LIMA, H. M. S.; DECIO, P., &. SILVA-ZACARIN, E. C. Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 304, p. 119140, 2022.

DE MENEZES PEDRO, Silvia Regina. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 61, n. 4, p. 348–354, 2014. DOI: 10.13102/sociobiology.v61i4.348-354.

DE SOUSA, Cristina Soares; SERRÃO, José Eduardo; BONETTI, Ana Maria; AMARAL, Isabel Marques Rodrigues; KERR, Warwick Estevam; MARANHÃO, Andréa Queiroz; UEIRA-VIEIRA, Carlos. Insights into the *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) fat body transcriptome. **Genetics and Molecular Biology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 292–297, 2013. DOI: 10.1590/S1415-47572013000200022.

DEAN, R. L. ...; LOCKE, M. ...; COLLINS, J. V. Structure of the fat body. In: KERKUT, G. A. ...; GILBERT, L. I. (org.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. New. 3. ed. New York: Pergamon Press, 1985. p. 155–210.

DÉCIO, Pâmela. **ESTRESSE CELULAR E ATIVIDADE DE ENZIMAS BIOMARCADORAS EM ABELHAS AFRICANIZADAS *Apis mellifera* LINEU, 1758 (HYMENOPTERA, APIDAE) EXPOSTAS AO TIAMETOXAM**. 2019. [S. l.], 2019.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: **Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors**. Springer ed. New York. p. 85–95.

DECOURTYE, Axel; ARMENGAUD, Catherine; RENOUE, Michel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; GAUTHIER, Monique; PHAM-DELÈGUE, Minh Hà. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 83–92, 2004. a. DOI: 10.1016/j.pestbp.2003.10.001.

DECOURTYE, Axel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; CHARRETON, Mercedes; PHAM-DELÈGUE, Minh-Hà. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 57, p. 410–419, 2004. b. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.001.

DESNEUX, Nicolas; DECOURTYE, Axel; DELPUECH, Jean-Marie. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annu. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 52, p. 81–106, 2007.

DEVKOTA, Kedar; DHAKAL, Shiva Chandra; THAPA, Resham Bahadur. Economics of beekeeping as pollination management practices adopted by farmers in Chitwan district of Nepal. **Agriculture and Food Security**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–6, 2016. DOI: 10.1186/s40066-016-0053-9.

DI NOI, Agata; CASINI, Silvia; CAMPANI, Tommaso; CAI, Giampiero; CALIANI, Ilaria. 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**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 1–22, 2021. DOI: 10.3390/ijerph18041863.

DI PRISCO, Gennaro; CAVALIERE, Valeria; ANNOSCIA, Desiderato; VARRICCHIO, Paola; CAPRIO, Emilio; NAZZI, Francesco; GARGIULO, Giuseppe; PENNACCHIO, Francesco. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 110, n. 46, p. 18466–18471, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1314923110.

DIMITRIADIS, V. K.; KASTRITSIS, C. D. Ultrastructural Analysis of the Midgut of *Drosophila auraria* larvae-Distribution of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, Leucine Aminopeptidase, and Glycogen V. **Cytologia**, [S. l.], v. 50, p. 689–700, 1985.

DOMINGUES, Caio E. C.; ABDALLA, Fábio Camargo; BALSAMO, Paulo José; PEREIRA, Beatriz V. R.; HAUSEN, Moema de Alencar; COSTA, Monica Jones; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotoxic system of the Africanized honeybee. **Chemosphere**, [S. l.], v. 186, p. 994–1005, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.133.

DOU. PORTARIA Nº 148. **Diário Oficial da União**, [S. l.], v. 248, 2017.

DUBOVSKIY, IM; KRYUKOVA, NA; GLUPOV, VV; RATCLIFFE, NA. Encapsulation and nodulation in insects. **REVIEW**, [S. l.], p. 229–246, 2016.

DUNN, Peter E. BIOCHEMICAL ASPECTS OF INSECT IMMUNOLOGY. **Ann. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 31, p. 321–339, 1986.

EL-MOHANDES, S. S.; NAFEA, E. A.; FAWZY, A. M. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 3, p. 213–220, 2010. DOI: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.

EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana; GÓIS, Glayciane Costa; SILVA, Claudete Maria Da; SOUZA, Darklê Luiza De; SOUZA, Denize Núbria; SILVA, Patrícia Cândido da Cruz; ALVES, Elisângela de lima; RODRIGUES, Marcelo Luis. Desenvolvimento produtivo de colmeias de abelhas *Melipona scutellaris*. **Biotemas**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 59–64, 2008.

EVGEN'EV, Michael B.; GARBUZ, David G.; ZATSEPINA, Olga G. **Heat Shock Proteins and Whole Body Adaptation to Extreme Environments**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-94-017-9235-6_5.

FAITA, M. R.; DE MEDEIROS OLIVEIRA, E.; JÚNIOR, V. V. A.; ORTH, A. I., &. NODARI, R. O. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. **Chemosphere**, [S. l.], v. 211, p. 566–572, 2018.

FENG, Hongzu; WANG, Lan; LIU, Yinghong; HE, Lin; LI, Ming; LU, Wencai; XUE, Chuanhua. Molecular characterization and expression of a heat shock protein gene (HSP90) from the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 10, n. 112, p. 1–14, 2010. DOI: 10.1673/031.010.11201.

FERRANDON, Dominique; IMLER, Jean Luc; HETRU, Charles; HOFFMANN, Jules A. The *Drosophila* systemic immune response: Sensing and signalling during bacterial and fungal infections. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. 862–874, 2007. DOI: 10.1038/nri2194.

FREE, Gary D. Variables affecting guilty pleas and convictions in rape cases: Toward a social theory of rape processing. **Social Forces**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 833–850, 1980.

- FREITAS, Breno Magalhães; PINHEIRO, José Nunes. EFEITOS SUB-LETAIS DOS PESTICIDAS AGRÍCOLAS E SEUS IMPACTOS NO MANEJO DE POLINIZADORES DOS AGROECOSSISTEMAS BRASILEIROS. **Oecologia Australis**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 282–298, 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1401.17.
- FREITAS, BRENO MAGALHÃES; SILVA, CLÁUDIA INÊS DA. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil: A polinização. **Agricultura e Polinizadores**, [S. l.], n. 1, p. 10–10, 2015.
- FRYDMAN, Judith. F OLDING OF N EWLY T RANSLATED P ROTEINS I N V IVO : The Role of Molecular Chaperones. **Annu. Rev. Biochem.**, [S. l.], p. 603–647, 2001.
- GARIBALDI, Lucas A.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; WINFREE, Rachael; WESTPHA, Catrin; WILLIAMS, Neal; KLEIN, Alexandra M. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. **Science**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1126/science.1230200.
- GARRIDO, Carmen; GURBUXANI, Sandeep; RAVAGNAN, Luigi; KROEMER, Guido. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 286, n. 3, p. 433–442, 2001. DOI: 10.1006/bbrc.2001.5427.
- GARRIDO, Paula Melisa; ANTÚNEZ, Karina; MARTÍN, Mariana; PORRINI, Martín Pablo; ZUNINO, Pablo; EGUARAS, Martín Javier. Immune-related gene expression in nurse honey bees (*Apis mellifera*) exposed to synthetic acaricides. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 113–119, 2013. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2012.10.019.
- GÄTSCHENBERGER, Heike; AZZAMI, Klara; TAUTZ, Jürgen; BEIER, Hildburg. Antibacterial Immune Competence of Honey Bees (*Apis mellifera*) Is Adapted to Different Life Stages and Environmental Risks. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 6, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0066415.
- GAZZIERO, D. L. .. MISTURAS DE AGROTÓXICOS EM TANQUE NAS PROPRIEDADES AGRÍCOLAS DO BRASIL. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 83–92, 2015.
- GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. a. DOI: 10.1093/jee/tov093.
- GIANNINI, Tereza Cristina; CORDEIRO, Guaraci Duran; FREITAS, Breno M.; SARAIVA, Antonio Mauro; IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lúcia. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. b.
- GIESY, John P. ..; DOBSON, Stuart.; SOLOMON, Keith R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, [S. l.], p. 35–120, 2000.
- GILLESPIE, P; JEREMY; KANOST, Michael R. ..; TRENCZEK, Tina. Biological mediators of insect immunity. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 611–643, 1997.
- GONG, Youhui; DIAO, Qingyun. Current knowledge of detoxification mechanisms of xenobiotic in honey bees. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 0–1, 2017. DOI: 10.1007/s10646-016-1742-7.
- GONZÁLEZ-SANTOYO, Isaac; CÓRDOBA-AGUILAR, Alex. Phenoloxidase: A key component of the insect immune system. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, [S. l.], v. 142, n. 1, p. 1–16, 2012. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x.
- GOUGH, H. ..; MCINDOE, E. ..; LEWIS, G. .. The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 22, p. 119–125, 1994.

GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology** 2013, [S. l.], v. 50, p. 977–987, 2013. a. DOI: 10.1111/1365-2664.12111.

GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 977–987, 2013. b.

GREGORY, Casey L.; FELL, Richard D.; BELDEN, Lisa K.; WALKE, Jenifer B. Classic Hoarding Cages Increase Gut Bacterial Abundance and Reduce the Individual Immune Response of Honey Bee (*Apis mellifera*) Workers. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 1–5, 2022. DOI: 10.1093/jisesa/ieac016.

GRZELAK, Krystyna; KUMARAN, A. Krishna. Developmental changes in the larval fat body during metamorphosis in *Galleria mellonella*. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 445–453, 1986. DOI: 10.1016/0022-1910(86)90005-3.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. **CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - Gramado**, [S. l.], v. 29, 2014.

HAN, Peng; NIU, Chang Ying; LEI, Chao Liang; CUI, Jin Jie; DESNEUX, Nicolas. Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera* L. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 1612–1619, 2010. DOI: 10.1007/s10646-010-0546-4.

HAVARD, Tiphaine; LAURENT, Marion; CHAUZAT, Marie-pierre. Hymenoptera : Apidae): Some Guidance for Research Emerge from a Meta-Analysis. **Diversity**, [S. l.], v. 12, n. 7, p. 1–13, 2020. DOI: doi:10.3390/d12010007.

HEARD, Tim A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 44, n. June, p. 183–206, 1999. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.183.

HELMBRECHT, K.; ZEISE, E.; RENSING, L. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: A review. **Cell Proliferation**, [S. l.], v. 33, n. 6, p. 341–365, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-2184.2000.00189.x.

HELMER, S. H.; KERBAOL, A.; ARAS, P.; JUMARIE, C., &. BOILY, M. Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 22, n. 11, p. 8010–8021, 2015.

HENRY, Mickaël; BÉGUIN, Maxime; REQUIER, Fabrice; ROLLIN, Orianne; ODOUX, Jean François; AUPINEL, Pierrick; APTEL, Jean; TCHAMITCHIAN, Sylvie; DECOURTYE, Axel. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, [S. l.], v. 336, n. 6079, p. 348–350, 2012. DOI: 10.1126/science.1215039.

HERBERT, Lucila T.; VÁZQUEZ, Diego E.; ARENAS, Andrés; FARINA, Walter M. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **The Company of Biologists Ltd | The Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, p. 3457–3464, 2014. DOI: 10.1242/jeb.109520.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2016.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores - Parecer técnico nº sei ibama 6220406. **IMinistério do Meio Ambiente**, [S. l.], p. 1–298, 2019.

ILYASOV, Rustem A.; GAIFULLINA, Louisa R.; TYKOVA, Elena S. ... Sal; SKRYAKOV, Aleksandr V. Po; NIKOLENKO, Alexei G. REVIEW OF THE EXPRESSION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE DEFENSIN IN HONEY BEES APIS MELLIFERA L. **Journal of Apicultural Science**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 115–124, 2012. DOI: 10.2478/v10289-012-0013-y.

IPBES, Intergovernmental Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. **Summary for policymakers of the assessment report on pollinators, pollination and food production**. Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. Bonn, Germany.

JACOB, Cynthia R. O.; SOARES, Hellen M.; NOCELLI, C. F.; MALASPINA, Osmar. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Pest Manag Sci**, [S. l.], v. 71, p. 114–122, 2015. DOI: 10.1002/ps.3776.

JAMES, R. R. ...; XU, J. Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. **Journal of invertebrate pathology**, [S. l.], v. 109, n. 2, p. 175–182, 2012.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; JUNQUEIRA, LMMS. Técnicas básicas de citologia e histologia. **São Paulo: Santos**, [S. l.], p. 124, 1983.

KAIRO, Guillaume et al. Assessment of the toxic effect of pesticides on honey bee drone fertility using laboratory and semifield approaches: A case study of fipronil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 36, n. 9, p. 2345–2351, 2017. DOI: 10.1002/etc.3773.

KAVANAGH, Kevin; REEVES, Emer P. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 101–112, 2004. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.09.002.

KEELEY, LARRY L. **Physiology and Biochemistry of the Fat Body**. [s.l.] : Pergamon Press Ltd., 1985. v. 2 DOI: 10.1016/b978-0-08-030804-3.50012-1.

KERR, W. E. **Biología e manejo de meliponíneos**. 1996.

KERR, Warwick Estevam; BUENO, David. NATURAL CROSSING BETWEEN APIS MELLIFERA ADANSONII AND APIS MELLIFERA LIGUSTICA. **EVOLUTION**, [S. l.], v. 24, p. 145–148, 1970.

KLEIN, Alexandra-Maria; VAISSIÈRE, Bernard E.; CANE, James H.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; CUNNINGHAM, Saul A.; KREMEN, Claire; TSCHARNTKE, Teja. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **The Royal Society**, [S. l.], p. 303–313, 2007. DOI: 10.1098/rspb.2006.3721.

KORNER, Pius; SCHMID-HEMPEL, Paul. Correlates of parasite load in bumblebees in an Alpine habitat. **Entomological Science**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 151–160, 2005. DOI: 10.1111/j.1479-8298.2005.00113.x.

KRAUTZ, Robert; AREFIN, Badrul; THEOPOLD, Ulrich. Damage signals in the insect immune response. **Plant Science**, [S. l.], v. 5, p. 1–11, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00342.

KREGEL, K. C. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 92, p. 2177–2186, 2002.

KREMEN, Claire et al. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms : a conceptual framework for the effects of land-use change. **Ecology Letters**, [S. l.], v. 10, p. 299–314, 2007. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x.

LA MORANDIN, ML Winston. Effects of novel pesticides on bumble bee (Hymenoptera: Apidae) colony health and foraging ability. **Environmental Entomology**, [S. l.], 2003.

LAMBERT, Olivier et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons : Bees , honey and pollen as sentinels

- for environmental chemical contaminants. **Chemosphere**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 98–104, 2012. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.09.025.
- LAUGHTON, Alice M.; BOOTS, Michael; SIVA-JOTHY, Michael T. The ontogeny of immunity in the honey bee, *Apis mellifera* L. following an immune challenge. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 57, n. 7, p. 1023–1032, 2011. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2011.04.020.
- LAVINE, M. D.; STRAND, M. R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 32, p. 1295–1309, 2002.
- LAW, J. H.; WELLS, M. A. Insects as biochemical models. **The Journal of biological chemistry**, [S. l.], v. 264, n. 28, p. 16335–16338, 1989. DOI: 10.1016/s0021-9258(19)84707-5.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. &. COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4 ed ed. São Paulo: Savier, 2007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January 2021, p. 315–333, 2019. a. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, p. 315–333, 2019. b. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January, p. 315–333, 2019. c. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LIMA, L. C. F. Produtos fitossanitários: misturas em tanque. **Cascavel: Ocepar/Coodetec/Associação Nacional de Defesa Vegetal**, [S. l.], 1997.
- LINDQUIST, S. THE HEAT -SHOCK PROTEINS. **Annu. Rev. Genet.**, [S. l.], v. 22, p. 631–677, 1988.
- LIPOVŠEK, Saška; JANŽEKOVIČ, Franc; NOVAK, Tone. Ultrastructure of fat body cells and Malpighian tubule cells in overwintering *Scoliopteryx libatrix* (Noctuoidea). **Protoplasma**, [S. l.], v. 254, n. 6, p. 2189–2199, 2017. DOI: 10.1007/s00709-017-1110-3.
- LOCKE, M. The structure and development of the vacuolar system in the fat body of insects. **Insect ultrastructure. 2 ed. New York: Plenum Press**, [S. l.], p. 151–197, 1984.
- LÓPEZ-URIBE, Margarita M.; FITZGERALD, Andrea; SIMONE-FINSTROM, Michael. Inducible versus constitutive social immunity: Examining effects of colony infection on glucose oxidase and defensin-1 production in honeybees. **Royal Society Open Science**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 10–17, 2017. DOI: 10.1098/rsos.170224.
- LOVALLO, Naomi; COX-FOSTER, L, Diana. Alteration in FAD–glucose dehydrogenase activity and hemocyte behavior contribute to initial disruption of *Manduca sexta* immune response to *Cotesia congregata* parasitoids. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1037–1048, 1999.
- LU, Kai; CHEN, Xia; LIU, Wenting; ZHOU, Qiang. Identification of a heat shock protein 90 gene involved in resistance to temperature stress in two wing-morphs of *Nilaparvata lugens* (Stål). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S. l.], v. 197, p. 1–8, 2016. DOI: 10.1016/J.CBPA.2016.02.019.
- LYCETT, G. C.; MCLAUGHLIN, L. A.; RANSON, H.; HEMINGWAY, J.; KAFATOS, F. C.; LOUKERIS, T. G.; PAINE, M. J. I. *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], p. 7, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2586.2006.00647.x.

- MAGGI, Matías et al. Honeybee health in South America. **Apidologie**, [S. l.], v. 47, n. 6, p. 835–854, 2016. DOI: 10.1007/s13592-016-0445-7.
- MALASPINA, Osmar; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Cell makers for ecotoxicological studies in target organs of bees. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, [S. l.], p. 2006, 2006.
- MANJON, Cristina et al. **Unravelling the Molecular Determinants of Bee Sensitivity to Neonicotinoid Insecticides** *Current Biology*. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1016/j.cub.2018.02.045.
- MARIMOTO, R. I. ..; TISSIERES, A. ..; GEORGOPOULOUS, C. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press . 1994. **New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press**, [S. l.], 1994.
- MARTINS, Gustavo Ferreira; RAMALHO-ORTIGÃO, J. M. Oenocytes in insects. **Invertebrate Survival Journal**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 139–152, 2012.
- MASON, Rosemary. Immune Suppression by Neonicotinoid Insecticides at the Root of Global Wildlife Declines. **Journal of Environmental Immunology and Toxicology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 3, 2013. DOI: 10.7178/jeit.1.
- MATTSON, Mark P.; CALABRESE, Edward J. **Hormesis: A revolution in biology, toxicology and medicine**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-1-60761-495-1.
- MCKINSTRY, Mia; CHUNG, Charlie; TRUONG, Henry; JOHNSTON, Brittany A.; SNOW, Jonathan W. The heat shock response and humoral immune response are mutually antagonistic in honey bees. **Scientific Reports**, [S. l.], p. 1–14, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-09159-4.
- MDIC (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, Comércio Exterior e Serviços). http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais_2020 MDIC, 2022 <https://www.gov.br/produtividade-e-comercio-exterior/pt-br/assuntos/comercio-exterior/estatisticas/>. 2022. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais_2020.
- MEUNIER, Joël. Social immunity and the evolution of group living in insects. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 370, n. 1669, p. 19–21, 2015. DOI: 10.1098/rstb.2014.0102.
- MEYER, T. N.; SILVA, A. L. Resposta celular ao estresse. **Rev Ass Med Brasil** 1999; [S. l.], p. 181–188, 1999.
- MOFFAT, Christopher; PACHECO, Joao Goncalves; SHARP, Sheila; SAMSON, Andrew J.; BOLLAN, Karen A.; HUANG, Jeffrey; BUCKLAND, Stephen T.; CONNOLLY, Christopher N. Chronic exposure to neonicotinoids increases neuronal vulnerability to mitochondrial dysfunction in the bumblebee (*Bombus terrestris*). **The FASEB Journal** •, [S. l.], 2019. DOI: 10.1096/fj.14-267179.
- MORITZ, Robin F. A.; DE MIRANDA, Joachim; FRIES, Ingemar; LE CONTE, Yves; NEUMANN, Peter; PAXTON, Robert J. Research strategies to improve honeybee health in Europe. **Apidologie**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 227–242, 2010. DOI: 10.1051/apido/2010010.
- MOSSER, Dick D.; CARON, Antoine W.; BOURGET, Lucie; DENIS-LAROSE, Claude; HP, Canada. Role of the Human Heat Shock Protein hsp70 in Protection against Stress-Induced Apoptosis. **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY**, [S. l.], v. 17, n. 9, p. 5317–5327, 1997.
- NAZIR, Aamir; SAXENA, Daya Krishna;; CHOWDHURI, Debapratim Kar. Induction of hsp70 in transgenic *Drosophila*: biomarker of exposure against phthalimide group of chemicals. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, [S. l.], v. 191621, n. 2, p. 218–225, 2003.

NAZZI, Francesco; LE CONTE, Yves. Ecology of Varroa destructor, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, Apis mellifera. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 61, p. 417–432, 2016. DOI: 10.1146/annurev-ento-010715-023731.

NEGRI, Pedro; MAGGI, Matias D.; RAMIREZ, Leonor; DE FEUDIS, Leonardo; SZWARSKI, Nicolás; QUINTANA, Silvina; EGUARAS, Marin J.; LAMATTINA, Lorenzo. Abscisic acid enhances the immune response in Apis mellifera and contributes to the colony fitness. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 542–557, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0345-7.

NEGRI, Pedro; QUINTANA, Silvina; MAGGI, Matias; SZAWARSKI, Nicolas; LAMATTINA, Lorenzo; EGUARAS, Martin. Apis mellifera hemocytes generate increased amounts of nitric oxide in response to wounding/encapsulation. **Apidologie**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 610–617, 2014. DOI: 10.1007/s13592-014-0279-0.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. Uso de atrativos e repelentes na polinização dirigida. In: **ANAIS ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., Ribeirão Preto**, [S. l.], p. 21–27, 1998.

NOVAIS, Samuel M. A.; NUNES, Cassio A.; SANTOS, Natália B.; D'AMICO, Ana R.; FERNANDES, G. Wilson; QUESADA, Mauricio; BRAGA, Rodrigo F.; NEVES, Ana Carolina O. Effects of a Possible Pollinator Crisis on Food Crop Production in Brazil. **PloS one**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1–12, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0167292.

NUNES, Lorena Andrade; PINTO, Maria de Fátima Ferreira da Costa; CARNEIRO, Paulo; PEREIRA, Derval Gomes; WALDSCHMIDT, Ana Maria. GENETIC DIVERGENCE IN Melipona scutellaris LATREILLE (Hymenoptera: Apidae) ON THE BASIS OF MORPHOLOGIC CHARACTERS. **Biosci. J., Uberlândia**, [S. l.], v. 23, p. 1–9, 2007.

OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test t, n.214. **GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. Honeybees**, [S. l.], p. 7, 1998.

PAES DE OLIVEIRA, V. T. ..; CRUZ-LANDIM, C. Size. Size of fat body trophocytes and the ovarian development in workers and queens of Melipona quadrifasciata anthidioides. **Sociobiology**, [S. l.], p. 701–709, 2003.

PETROS, AM; OLEJNICZAK, ET; FESIK, SW. Structural biology of the Bcl-2 family of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1644, n. 2–3, p. 84–93, 2004.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A. e; ALCÂNTARA NETO, F. INCOMPATIBILIDADE FÍSICA DE MISTURAS ENTRE HERBICIDAS E INSETICIDAS. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 449–457, 2012.

PETTIS, Jeffery S.; LICHTENBERG, Elinor M.; ANDREE, Michael; STITZINGER, Jennie; ROSE, Robyn; VANENGELSDORP, Dennis. Crop Pollination Exposes Honey Bees to Pesticides Which Alters Their Susceptibility to the Gut Pathogen Nosema ceranae. **Plos One**, [S. l.], v. 8, n. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0070182.

PILLING, Edward D. ..; JEPSON, Paul C. Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (Apis mellifera). **Pesticide Science**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 293–297, 1993.

PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. D. S.; CHAM, K. O.; VIANA-SILVA, F. E. C.; BORGES, L. O.; TONELLI, C. A. M.; CIONE, A. P. Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos. **Brasília: Ibama**, [S. l.], 2018.

POLETTAA, G. L.; LARRIERA, A.; KLEINSORGE, E.; MUDRY, M. D. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. **Mutation Research**, [S. l.], p. 95–102, 2009. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.10.007.

- POTTS, Simon G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature Publishing Group**, [S. l.], v. 540, n. 7632, p. 220–229, 2016. DOI: 10.1038/nature20588.
- POTTS, Simon G.; BIESMEIJER, Jacobus C.; KREMEN, Claire; NEUMANN, Peter; SCHWEIGER, Oliver; KUNIN, William E. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010. DOI: 10.1016/j.tree.2010.01.007.
- POWNER, Michael B.; SALT, Thomas E.; HOGG, Chris; JEFFERY, Glen. Improving Mitochondrial Function Protects Bumblebees from Neonicotinoid Pesticides. **PloS one**, [S. l.], p. 1–11, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0166531.
- PRADO, Fernanda Scavassa Ribeiro. **Análise cromatográfica da abamectina e do difenoconazol em amostras de tecido de abelhas da espécie *Melipona scutellaris* e avaliação de efeitos de biomarcadores bioquímicos**. 2020. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2020.
- QIAO, Li; WU, Jun X.; QIN, Dao Z.; LIU, Xiang C.; LU, Zhao C.; LV, Li Z.; PAN, Zi L.; CHEN, Hao; LI, Guang W. Gene expression profiles of heat shock proteins 70 and 90 from *Empoasca onukii* (Hemiptera: Cicadellidae) in response to temperature stress. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015. DOI: 10.1093/jisesa/iev030.
- REEVES, Alison M.; O'NEAL, Scott T.; FELL, Richard D.; BREWSTER, Carlyle C.; ANDERSON, Troy D. In-hive acaricides alter biochemical and morphological indicators of honey bee nutrition, immunity, and development. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 1–6, 2018. DOI: 10.1093/jisesa/iey086.
- RICKETTS, Taylor H. et al. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? **Ecology Letters**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 499–515, 2008. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x.
- ROBERT, B.; JR, Bowers; GEORGE, N.; ALKALINE, Solomon. **Alkaline phosphatase**. [s.l.] : Springer Science & Business Media, 2013.
- RÖHL, Alina; ROHRBERG, Julia;; BUCHNER, Johannes. The chaperone Hsp90: changing partners for demanding clients. **Trends in biochemical sciences**, [S. l.], v. 138, n. 5, p. 253–262, 2013.
- ROMA, Gislaine Cristina; BUENO, Odair Corrêa; CAMARGO-MATHIAS, Maria Izabel. Morphophysiological analysis of the insect fat body: A review. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 395–401, 2010. DOI: 10.1016/j.micron.2009.12.007.
- ROMER, Franz; EMMERICH, Hans;; NOWOCK, Joachim. Biosynthesis of ecdysones in isolated prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor* in vitro. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 20, n. 10, p. 1975–1987, 1974.
- RONDEAU, Gary; SÁNCHEZ-BAYO, Francisco; TENNEKES, Henk A.; DECOURTYE, Axel; RAMÍREZ-ROMERO, Ricardo; DESNEUX, Nicolas. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 4, p. 1–8, 2014. DOI: 10.1038/srep05566.
- ROSSI, Caroline de Almeida; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOLOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Brain Morphophysiology of Africanized Bee *Apis mellifera* Exposed to Sublethal Doses of Imidacloprid. **Arch Environ Contam Toxicol**, [S. l.], p. 234–243, 2013. DOI: 10.1007/s00244-013-9897-1.
- RUBIO, Fernando; GUO, Emily; KAMP, Lisa. Survey of Glyphosate Residues in Honey, Corn and Soy Products. **Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2014. DOI: 10.4172/2161-0525.1000249.
- SCHMID-HEMPEL, Paul. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual review of**

entomology, [S. l.], v. 50, p. 529, 2005.

SCHMID, Martin R.; BROCKMANN, Axel; PIRK, Christian W. W.; STANLEY, David W.; TAUTZ, Jürgen. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not phenoloxidase-based immunity. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 439–444, 2008. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.

SGOLASTRA, Fabio et al. Synergistic interactions between pesticides in three bee species. **Pest Management Science**, [S. l.], p. doi: 10.1002/ps.4449, 2016. DOI: 10.1002/ps.4449.

SHORTER, James. The Mammalian Disaggregase Machinery: Hsp110 Synergizes with Hsp70 and Hsp40 to Catalyze Protein Disaggregation and Reactivation in a Cell-Free System. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 10, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0026319.

SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; GREGORC, Ales; MORAES, Regina L. M. S. In situ localization of heat-shock proteins and cell death labelling in the salivary gland of acaricide-treated honeybee larvae *. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, p. 507–516, 2006. DOI: 10.1051/apido.

SILVA, Mariana Barrotti Da; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira; SOARES, Hellen Maria; MALASPINA, Osmar. Efeitos do imidacloprido sobre o comportamento das abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae). **Ciência, Tecnologia e Ambiente**, [S. l.], 2016.

SIVA-JOTHY, Michael T.; MORET, Yannick; ROLFF, Jens. **Insect Immunity: An Evolutionary Ecology Perspective**. [s.l.: s.n.]. v. 32 DOI: 10.1016/S0065-2806(05)32001-7.

SIVITER, Harry; BAILES, Emily J.; MARTIN, Callum D.; OLIVER, Thomas R.; KORICHEVA, Julia; LEADBEATER, Ellouise; BROWN, Mark J. F. Agrochemicals, but not other stressors, interact synergistically to increase bee mortality. [S. l.], [s.d.].

SLAA, Ester Judith; SÁNCHEZ CHAVES, Luis Alejandro; MALAGODI-BRAGA, Katia Sampaio; HOFSTEDE, Frouke Elisabeth. Stingless bees in applied pollination: Practice and perspectives. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 293–315, 2006. DOI: 10.1051/apido:2006022.

SOARES-LIMA, Hellen Maria. **EFEITOS COMBINADOS DE *Nosema ceranae* E DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* AFRICANIZADA**. 2017. [S. l.], 2017.

SOLOMON, Keith; THOMPSON, Dean. Ecological Risk Assessment for Aquatic Organisms from Over-Water Uses of Glyphosate FROM OVER-WATER USES OF GLYPHOSATE. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, [S. l.], v. 7404, 2003. DOI: 10.1080/10937400306468.

STEINMANN, Nadja; CORONA, Miguel; NEUMANN, Peter; DAINAT, Benjamin. Overwintering is associated with reduced expression of immune genes and higher susceptibility to virus infection in honey bees. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 1–18, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0129956.

SUCHAIL, Séverine; DEBRAUWER, Laurent; BELZUNCES, Luc P. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 291–296, 2004. DOI: 10.1002/ps.772.

SUN, S. M.; ZHU, J.; GE, X. P.; ZHANG, C. F.; MIAO, L. H.; JIANG, X. J. Cloning and expression analysis of a heat shock protein 90 β isoform gene from the gills of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) subjected to nitrite stress. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 3036–3051, 2015. DOI: 10.4238/2015.April.10.14.

TAKEUCHI, Hideaki; PAUL, Rajib Kumar; MATSUZAKA, Emiko; KUBO, Takeo. EcR-A expression in the brain and ovary of the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Zoological Science**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 596–603, 2007. DOI: 10.2108/zsj.24.596.

TAVARES, Daiana Antonia; DUSSAUBAT, Claudia; KRETZSCHMAR, André; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; MALASPINA, Osmar; BÉRAIL, Géraldine; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 229, p. 386–393, 2017. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.05.092.

TAVARES, Daiana Antonia; ROAT, Thaisa Cristina; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine Cristina Mathias; MALASPINA, Osmar. Chemosphere In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). **Chemosphere**, [S. l.], v. 135, p. 370–378, 2015. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.090.

TOLEDO, R. J. ...; GUILLÉN, S. D. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**, [S. l.], v. 30, p. 408–413, 2014.

TOMIZAWA, Motohiro; CASIDA, John E. S ELECTIVE T OXICITY OF N EONICOTINOIDS A TTRIBUTABLE TO S PECIFICITY OF I NSECT AND M AMMALIAN N ICOTINIC R ECEPTORS. **Annu. Rev. Entomol**, [S. l.], p. 339–364, 2003. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731.

TOMIZAWA, Motohiro; OTSUKA, Hiroko; MIYAMOTO, Toru; YAMAMOTO, Izuru; ELDEFRAWI, Mohyee E. Pharmacological Characteristics of Insect Nicotinic Acetylcholine Receptor with Its Ion Channel and the Comparison of the Effect of Nicotinoids and Neonicotinoids. **Journal of Pesticide Science**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 57–64, 1995. DOI: 10.1584/jpestics.20.57.

TONI, Luís R. M.; SANTANA, Henrique De. Divulgação. [S. l.], v. 29, n. 4, p. 829–833, 2006.

TORNISIELO, Valdemar Luiz; BOTELHO, Rafael Grossi; ALVES, Paulo Alexandre de Toledo; BONFLEUR, Eloana Janice; MONTEIRO, Sergio Henrique. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. **Intech**, [S. l.], p. 17, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/55948>.

TOSI, S.; SFEIR, C.; CARNESECCHI, E., &. CHAUZAT, M. P. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. **Science of The Total Environment**, [S. l.], p. 156857, 2022.

TOSI, Simone; COSTA, Cecilia; VESCO, Umberto; QUAGLIA, Giancarlo; GUIDO, Giovanni. A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 615, p. 208–218, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.226.

TSUTSUMI, Shinji; NECKERS, Len. Extracellular heat shock protein 90: A role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. **Cancer Science**, [S. l.], v. 98, n. 10, p. 1536–1539, 2007. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00561.x.

VABULAS, R. Martin; RAYCHAUDHURI, Swasti; HAYER-HARTL, Manajit; HARTL, F. Ulrich. Protein folding in the cytoplasm and the heat shock response. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, [S. l.], v. 2, n. 12, p. 19, 2010. DOI: 10.1101/cshperspect.a004390.

VANDERPLANCK, Maryse et al. Monitoring bee health in European agroecosystems using wing morphology and fat bodies. **One Ecosystem**, [S. l.], v. 6, p. 16, 2021. DOI: 10.3897/oneeco.6.e63653.

VESTERLUND, S. R.; LILLEY, T. M.; VAN OOIK, T.; SORVARI, J. The effect of overwintering temperature on the body energy reserves and phenoloxidase activity of bumblebee *Bombus lucorum* queens. **Insectes Sociaux**, [S. l.], v. 61, n. 3, p. 265–272, 2014. DOI: 10.1007/s00040-014-0351-9.

VIDAU, Cyril et al. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases

mortality of honeybees previously infected by nosema ceranae. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 6, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0021550.

VLAHOVIĆ, M.; LAZAREVIĆ, J.; PERIĆ-MATARUGA, V.; ILIJIN, L., &; MRDAKOVIĆ, M. Plastic responses of larval mass and alkaline phosphatase to cadmium in the gypsy moth larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 72, n. 4, p. 1148–1155, 2009.

WHITE, Jonathan W.; SUBERS, Mary H.; SCHEPARTZ, Abner I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. **BBA - Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 73, n. 1, p. 57–70, 1963. DOI: 10.1016/0006-3002(63)90359-7.

WILLIAMSON, Sally M.; WRIGHT, Geraldine A. Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 216, n. 10, p. 1799–1807, 2013. DOI: 10.1242/JEB.083931.

WILSON-RICH, Noah; SPIVAK, Marla; FEFFERMAN, Nina H.; STARKS, Philip T. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 54, n. October, p. 405–423, 2009. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093301.

WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, n. December 2016, p. 96–103, 2017. a. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.

WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, p. 96–103, 2017. b. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.

WOLOWSKI, Marina et al. **Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.4322/978-85-60064-83-0.

YOKOYAMA, Naoaki; HIRATA, Mineo; OHTSUKA, Kenzo; NISHIYAMA, Yukihiro; KEN, Fujii; FUJITA, Masatoshi; KUZUSHIMA, Kiyotaka; KIYONO, Tohru; TSURUMI, Tatsuya. Co-expression of human chaperone Hsp70 and Hsdj or Hsp40 co-factor increases solubility of overexpressed target proteins in insect cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1493, p. 119–124, 2000.

ZHANG, Wenjun; JIANG, Fubin; OU, Jianfeng. Global pesticide consumption and pollution : with China as a focus. **International Academy of Ecology and Environmental Sciences**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 125–144, 2011.

ZHU, Yu Cheng; YAO, Jianxiu; ADAMCZYK, John; LUTTRELL, Randall. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). **PLoS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. 1–19, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0178421.

7. Considerações finais

De modo geral, neste estudo foram analisados os efeitos de concentrações subletais do inseticida imidacloprido e o herbicida glifosato isolados e combinados em abelhas forrageiras das espécies *Apis mellifera* e *Melipona quadrifasciata* após 48 horas da exposição oral. Por meio dos resultados verificamos que as concentrações subletais dos agrotóxicos isolados e combinados causam diversos efeitos em ambas as espécies, corroborando com diversos trabalhos da literatura (MAGGI et al., 2016; DOMINGUES et al., 2017; DE ASSIS et al., 2022; TOSI et al., 2022).

Quando analisamos os efeitos causados nas células do corpo gorduroso parietal e na quantidade de hemócitos presentes na hemolinfa, observamos que a exposição causou danos aos trofócitos e enócitos, porém não alterou o número de hemócitos. Esses resultados reforçam dados encontrados na literatura que apontam para a alta responsividade do corpo gorduroso quando exposto a agentes tóxicos (BALSAMO et al., 2020; DOMINGUES et al., 2017; DE ASSIS et al., 2022). E indicam que o processo de metabolização desses agentes tóxicos foi eficiente nas células do corpo gorduroso, o que não induziu a uma diferença no número de hemócitos quando comparamos os grupos expostos ao grupo controle.

A análise das respostas mediadas pelo corpo gorduroso parietal também ocorreu por meio das proteínas de choque térmico (HSP) e pela técnica de marcação de morte celular (Tunel). Através dessas técnicas pudemos observar que em diversos grupos expostos aos agrotóxicos isolados ou combinados, a expressão de HSP70, sofreu um aumento, enquanto os níveis de HSP90, que não tem um papel bem estabelecido, não apresentou diferença quando comparada aos demais grupos. A partir desses dados podemos inferir que a HSP70 foi de extrema importância e capaz de manter a homeostase das células do corpo gorduroso, o que corrobora com a ausência de marcação pela técnica de Tunel.

Os dados encontrados através da técnica de HSP e Tunel reforçam as observações encontrados a partir da avaliação morfológicas e quantitativa dos hemócitos, uma vez que demonstram a eficiência das células do corpo gorduroso em manterem a proteostase do organismo e dessa forma, evitar que o imidacloprido e o glifosato isolados e combinados afetem o número de hemócitos ou a quantidade de morte celular. Diante do exposto, o presente estudo corrobora com trabalhos que demonstraram a eficiência do corpo gorduroso parietal como bom bioindicador celular da imunocompetência das abelhas, das

condições do sistema imune e da resposta imune do organismo (KEELEY, 1985; KORNER; SCHMID-HEMPEL, 2005; ALAUX et al., 2010; VESTERLUND et al., 2014).

Outro biomarcador importante na avaliação da resposta ao estresse e do sistema imune das abelhas das espécies *A. mellifera* e *M. quadrifasciata* é a análise da modulação da atividade enzimática (BADIOU-BÉNÉTEAU et al., 2012; BADAWY; NASR; RABEA, 2015). O presente trabalho analisou quatro enzimas (AChE, GOX, POX e PAL), envolvidas em processos de desintoxicação e proteção do sistema imune e constatou que a maior modulação na atividade enzimática ocorreu para o grupo exposto a mistura para ambas as espécies.

Dessa forma, podemos concluir que os dados do presente trabalho se complementam, uma vez que a ausência de alterações na quantidade de hemócitos, na morte celular e na enzima GOX, podem indicar que outros meios de manter a homeostase do organismo estavam agindo. O aumento da HSP70, para evitar que a célula entre no processo de morte celular; as alterações nas células do corpo gorduroso, indícios de aumento da atividade nuclear para realizar os processos de desintoxicação; modulações da atividade enzimática em relação ao controle e a comparação entre agrotóxicos isolados e combinados, para manter processos de defesa do organismo, como melanização, estavam atuando de forma eficaz para evitar que o organismo entrasse em colapso e comprometesse sua homeostase.

De forma geral, o presente trabalho mostrou que para as concentrações e tempos analisados, o organismo das abelhas consegue se recuperar, porém são necessários mais estudos para verificar os efeitos a exposições prolongadas dos agrotóxicos isolados e das combinações binárias, principalmente em abelhas nativas, pois isso ainda é uma lacuna presente na literatura.

Assim, o presente trabalho trouxe dados importantes para uma avaliação do sistema imune de espécies exóticas e nativas, expostas a concentrações subletais de agrotóxicos isolados e combinados. Além disso, os dados fornecem subsídios para embasar argumentos para conduzir discussões sobre as leis e regulamentos a respeito do uso de agrotóxicos

8. Referências Bibliográficas

- ABBO, Pendo M.; KAWASAKI, Joshua K.; HAMILTON, Michele; COOK, Steven C.; DEGRANDI-HOFFMAN, Gloria; LI, Wen Feng; LIU, Jie; CHEN, Yan Ping. Effects of Imidacloprid and Varroa destructor on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*. **Insect Science**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 467–477, 2017. DOI: 10.1111/1744-7917.12335.
- ABDALLA, Fábio Camargo; DOMINGUES, Caio Eduardo da Costa. Hepato-Nephrotoxic System : A Novel Model of Biomarkers for Analysis of the Ecology of Stress in Environmental Biomonitoring. **Plos One**, [S. l.], p. 1–9, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0132349.
- ABRAHAM, J.; BENHOTONS, G. S.; KRAMPAH, I.; TAGBA, J.; AMISSAH, C., &; ABRAHAM, J. D. Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. **Entomologia experimentalis et applicata**, [S. l.], v. 166, n. 8, p. 695–702, 2018.
- ADAMO, S. A. Why should an immune response activate the stress response? Insights from the insects (the cricket *Gryllus texensis*). **Brain, Behavior, and Immunity**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 194–200, 2010. DOI: 10.1016/j.bbi.2009.08.003.
- AENDA., ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS –. Mistura em tanque. **Caderno AENDA**, [S. l.], v. 1, p. 1–11, 2011.
- ALAUX, Cédric et al. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 774–782, 2010. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.
- ALAUX, Cédric; CRAUSER, Didier; PIOZ, Maryline; SAULNIER, Cyril; LE CONTE, Yves. Parasitic and immune modulation of flight activity in honey bees tracked with optical counters. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, n. 19, p. 3416–3424, 2014. DOI: 10.1242/jeb.105783.
- ALMASRI, Hanine et al. Physiological effects of the interaction between *Nosema ceranae* and sequential and overlapping exposure to glyphosate and difenoconazole in the honey bee *Apis mellifera*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 217, n. October 2020, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112258.
- ALQARNI, Abdulaziz S.; ALI, Hussain; IQBAL, Javaid; OWAYSS, Ayman A.; SMITH, Brian H. Expression of heat shock proteins in adult honey bee (*Apis mellifera* L.) workers under hot-arid subtropical ecosystems. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v.

26, n. 7, p. 1372–1376, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.08.017.

ALTINCICEK, Boran; KNORR, Eileen; VILCINSKAS, Andreas. Beetle immunity: Identification of immune-inducible genes from the model insect *Tribolium castaneum*. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 585–595, 2008. DOI: 10.1016/j.dci.2007.09.005.

ALVES, Stênio Nunes; SERRÃO, José Eduardo;; MELO, Alan Lane. Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 592–597, 2010.

AMIRESSAMI, Mohsen. Verhalten der Mycetozellen nach Insectizid-Einwirkung bei *Pemphigus bursarius* L. (Aphidina). **Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzen-und Umweltschutz**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 52–55, 1973.

ANTONIOU, M.; HABIB, MEM; HOWARD, CV; JENNINGS, RC; C LEIFERT, RO; NODARI, CJ; AND, Robinson7; FAGAN, J. Teratogenic Effects of Glyphosate-Based Herbicides: Divergence of Regulatory Decisions from Scientific Evidence. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 01, n. S4, 2012. DOI: 10.4172/2161-0525.s4-006.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice monográfico – G01 – Glifosato**. [s.d.]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/G01%2B%2BGlifosato.pdf/6a549ab8-990c-4c6b-b421-699e8f4b9ab4>. Acesso em: 27 jun. 2022.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. NOTA TÉCNICA Nº 23. [S. l.], 2018.

ARMSTRONG, Peter B.; MELCHIOR, Ralph; QUIGLEY, James P. Humoral immunity in long-lived arthropods. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 53–64, 1996. DOI: 10.1016/0022-1910(95)00082-8.

ARRESE, Estela L.; SOULAGES, Jose L. INSECT FAT BODY: ENERGY, METABOLISM, AND REGULATION. **Annu Rev Entomol.**, [S. l.], v. 55, p. 207–225, 2010. DOI: 10.1146/annurev-ento-112408-085356.

ARRIGO, André Patrick. Human small heat shock proteins: Protein interactomes of homo- and hetero-oligomeric complexes: An update. **FEBS Letters**, [S. l.], v. 587, n. 13, p. 1959–1969, 2013. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.05.011.

AZEVEDO, Patricia; BUTOLO, Nicole Pavan; DE ALENCAR, Luciano Delmondes; SOARES-LIMA, Hellen Maria; SALES, Victor Ribeiro; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Standardization of in vitro nervous tissue culture

for honeybee: A high specificity toxicological approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 189, n. September 2019, 2020. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.110040.

BADAWY, Mohamed E. I.; NASR, Hoda M.; RABEA, Entsar I. Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 177–193, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0315-0.

BADIOU-BÉNÉTEAU, Alexandra; CARVALHO, Stephan M.; BRUNET, Jean Luc; CARVALHO, Geraldo A.; BULETÉ, Audrey; GIROUD, Barbara; BELZUNCES, Luc P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 82, p. 22–31, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 218, n. 17, p. 2799–2805, 2015. a. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALBUENA, María Sol; TISON, Léa; HAHN, Marie-Luise; GREGGERS, Uwe; MENZEL, Randolph; FARINA, Walter M. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. **The Company of Biologists**, [S. l.], p. 2799–2805, 2015. b. DOI: 10.1242/jeb.117291.

BALSAMO, P. J.; DOMINGUES, C. E. D. C.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. D., GREGORC, A.; IRAZUSTA, S. P.; SALLA, R. F.; ABDALLA, F. C. Impact of sublethal doses of thiamethoxam and *Nosema ceranae* inoculation on the hepato-nephrotoxic system in young Africanized *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 350–361, 2020.

BASHA, Eman; O'NEILL, Heather; VIERLING, Elizabeth. Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. **Trends Biochem Sci.**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 106–117, 2012. DOI: 10.1016/j.tibs.2011.11.005.

BIERKENS, Johan G. E. A. Applications and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. **Toxicology**, [S. l.], v. 153, n. 1–3, p. 61–72, 2000. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00304-8.

BLACQUIÈRE, Tjeerd; SMAGGHE, Guy; VAN GESTEL, Cornelis A. M.; MOMMAERTS, Veerle. Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, side-

effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012. DOI: 10.1007/s10646-012-0863-x.

BOWEN, ID; MORGAN, SM; -, K. Mullarkey. Cell death in the salivary glands of metamorphosing *Calliphora vomitoria*. **Cell biology international**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 13–34, 1993.

BOŽENA, SZYMAŚA; JEĐRUSZUKB, Andrzej. The influence of different diets on haemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. **Apidologie**, [S. l.], v. 34, p. 97–102, 2003. DOI: 10.1051/apido:2003012.

BPBES. **Relatório Temático sobre Polinização , Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil**. [s.l: s.n.].

BRANDT, Annelly; GORENFLO, Anna; SIEDE, Reinhold; MEIXNER, Marina; BÜCHLER, Ralph. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 86, p. 40–47, 2016. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.01.001.

BRANDT, Annelly; GRIKSCHEIT, Katharina; SIEDE, Reinhold; GROSSE, Robert; MEIXNER, Marina Doris; BÜCHLER, Ralph. Immunosuppression in Honeybee Queens by the Neonicotinoids Thiacloprid and Clothianidin. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-04734-1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 46, de 24 de julho de 2002. Determina às empresas titulares de registros de agrotóxicos a retirada das indicações de misturas em tanque dos rótulos e bulas de seus agrotóxicos. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 4074 que regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providencias. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, [S. l.], 2002. b.

BROSI, Berry J.; BRIGGS, Heather M. Single pollinator species losses reduce floral fidelity and plant reproductive function. **PNAS**, [S. l.], v. 110, n. 32, p. 13044–13048, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1307438110.

BUCEKOVA, M.; VALACHOVA, I.; KOHUTOVA, L.; PROCHAZKA, E.; KLAUDINY, J., &. MAJTAN, J. Honeybee glucose oxidase—its expression in honeybee workers and comparative analyses of its content and H₂O₂-mediated antibacterial activity in natural honeys. **Naturwissenschaften**, [S. l.], v. 101, n. 8, p. 661–670, 2014.

BUCKINGHAM, S. D.; LAPIED, B.; LE CORRONC, H.; GROLEAU, F.; SATTELLE, D. B. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 200, n. 21, p. 2685–2692, 1997. DOI: 10.1242/jeb.200.21.2685.

BULET, Phillipe; HETRU, Charles; DIMARCQ, Jean-Luc; HOFFMANN, Daniéle Le. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. **Developmental and Comparative Immunology**, [S. l.], v. 23, p. 329–344, 1999.

BUTOLO, N. P.; AZEVEDO, P.; ALENCAR, L. D.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Impact of low temperatures on the immune system of honeybees. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 101, n. September, p. 103082, 2021. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2021.103082.

C, Hetru; D, Hoffmann; P, Bulet. Antimicrobial peptides from insects. *In: Molecular mechanisms of immune response in insects*. London: Chapman and Hal, 1998. p. 40–66.

CABRERO, Pablo; POLLOCK, Valerie P.; DAVIES, Shireen A.; DOW, Julian A. T. A conserved domain of alkaline phosphatase expression in the Malpighian tubules of dipteran insects. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 207, n. 19, p. 3299–3305, 2004. DOI: 10.1242/jeb.01156.

CAMPBELL, J. B.; NATH, R.; GADAU, J.; FOX, T.; DEGRANDI-HOFFMAN, G., & HARRISON, J. F. The fungicide Pristine® inhibits mitochondrial function in vitro but not flight metabolic rates in honey bees. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 86, p. 11–16, 2016.

CAPELLA, Ines C. Schmid.; HARTFELDER, Klaus. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 44, n. 5–6, p. 385–391, 1998. DOI: 10.1016/S0022-1910(98)00027-4.

CARNEIRO, Lenise Silva; TEIXEIRA, Stéphanie Asséf Millen Valente; GONÇALVES, Wagner Gonzaga; FERNANDES, Kenner Morais; ZANUNCIO, José Cola; SERRÃO, José Eduardo. Histochemistry, immunohistochemistry and cytochemistry of the anterior midgut region of the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Micron**, [S. l.], v. 113, n. June, p. 41–47, 2018. DOI: 10.1016/j.micron.2018.06.017.

CASIDA, John E.; DURKIN, Kathleen A. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 58, p. 99–

117, 2013. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153645.

CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornelio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy research and technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. a.

CATAE, Aline Fernanda; ROAT, Thaisa Cristina; DE OLIVEIRA, Regiane Alves; FERREIRA NOCELLI, Roberta Cornélio; MALASPINA, Osmar. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 77, n. 4, p. 274–281, 2014. b. DOI: 10.1002/jemt.22339.

CHAM, Karina O. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. **Environmental Entomology**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 36–48, 2019. DOI: 10.1093/ee/nvy137.

CHAN, Queenie W. T.; HOWES, Charles G.; FOSTER, Leonard J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. **Molecular and Cellular Proteomics**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 2252–2262, 2006. DOI: 10.1074/mcp.M600197-MCP200.

CHAPMAN, Reginald Frederick. The insects: structure and function. **Cambridge university press**, [S. l.], 2013.

CHEN, Kathryn T. et al. A Role for Intestinal Alkaline Phosphatase in the Maintenance of Local Gut Immunity. **Dig Dis Sci**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 1020–1027, 2011. DOI: 10.1007/s10620-010-1396-x.

CLARE, Daniel K.; SAIBIL, Helen R. ATP-driven molecular chaperone machines. **Biopolymers**, [S. l.], v. 99, n. 11, p. 846–859, 2013. DOI: 10.1002/bip.22361.

CLAUDIANOS, C.; RANSON, H.; JOHNSON, R. M.; BISWAS, S.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R.; FEYEREISEN, R.; OAKESHOTT, J. G. A deficit of detoxification enzymes: Pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 615–636, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x.

COSTA, L. M.; GRELLA, T. C.; BARBOSA, R. A.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015. DOI: 10.13102/sociobiology.v62i4.792.

- COUSIN, Marianne; SILVA-ZACARIN, Elaine; KRETZSCHMAR, André; EL MAATAOUI, Mohamed; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Size Changes in Honey Bee Larvae Oenocytes Induced by Exposure to Paraquat at Very Low Concentrations. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0065693.
- COUTURE, G.; LEGRIS, J.; LANGEVIN, R. Evaluation des impacts du glyphosate utilise dans le milieu forestier. **Ministere des Ressources Naturelles, Direction de Penvironnement forestier, Service du suivi environmental, Charlesbourg, Quebec, Canada.**, [S. l.], 1995.
- COX-FOSTER, Diana L. et al. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. **Science**, [S. l.], v. 318, n. 5848, p. 283–287, 2007. DOI: 10.1126/science.1146498.
- CRAUSER, Didier; CONTE, Yves Le; ALAUX, Cédric; DUCLOZ, François. Diet effects on honeybee immunocompetence. **Biology Letters**, [S. l.], v. 45, n. January, p. 562–565, 2010.
- CREMER, Sylvia; ARMITAGE, Sophie A. O.; SCHMID-HEMPE, Paul. Social Immunity. **Current Biology**, [S. l.], v. 17, p. 693–702, 2007. DOI: 10.1016/j.cub.2007.06.008.
- CRUZ-LANDIM, Carminda Da. Abelhas: morfologia e função de sistemas. [S. l.], 2009.
- CRUZ-LANDIM, C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. UNESP ed. São Paulo. DOI: 10.7476/9788539304301.
- DA COSTA, Leticia Mariano; GRELLA, Tatiane Caroline; BARBOSA, Rodrigo Avelaira; MALASPINA, Osmar; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015.
- DA CRUZ-LANDIM, C. O corpo gorduroso da larva de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep.(Apidae, Meliponinae). **Naturalia (São José do Rio Preto)**, [S. l.], v. 8, p. 7–23, 1983.
- DA CRUZ-LANDIM, Carminda; MELO CAVALCANTE, Vagner. Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Metamorphosis in the Midgut of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae: Apinae). **Zoological Science**, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 1099–1107, 2003. DOI: 10.2108/zsj.20.1099.
- DA CRUZ LANDIM, Carminda. **Abelhas**. [s.l: s.n.].

DAVID, Arthur; BOTÍAS, Cristina; ABDUL-SADA, Alaa; GOULSON, Dave; HILL, Elizabeth M. Sensitive determination of mixtures of neonicotinoid and fungicide residues in pollen and single bumblebees using a scaled down QuEChERS method for exposure assessment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 407, p. 26, 2015. DOI: 10.1007/s00216-015-8986-6.

DE ALMEIDA ROSSI, Caroline; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOLOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Effects of sublethal doses of imidacloprid in malpighian tubules of africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 76, n. 5, p. 552–558, 2013. DOI: 10.1002/jemt.22199.

DE ASSIS, J. C.; DA COSTA DOMINGUES, C. E.; TADEI, R.; DA SILVA, C. I.; LIMA, H. M. S.; DECIO, P., &. SILVA-ZACARIN, E. C. Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 304, p. 119140, 2022.

DE MENEZES PEDRO, Silvia Regina. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, [S. l.], v. 61, n. 4, p. 348–354, 2014. DOI: 10.13102/sociobiology.v61i4.348-354.

DE SOUSA, Cristina Soares; SERRÃO, José Eduardo; BONETTI, Ana Maria; AMARAL, Isabel Marques Rodrigues; KERR, Warwick Estevam; MARANHÃO, Andréa Queiroz; UEIRA-VIEIRA, Carlos. Insights into the *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) fat body transcriptome. **Genetics and Molecular Biology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 292–297, 2013. DOI: 10.1590/S1415-47572013000200022.

DEAN, R. L. ...; LOCKE, M. ...; COLLINS, J. V. Structure of the fat body. *In*: KERKUT, G. A. ...; GILBERT, L. I. (org.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. New. 3. ed. New York: Pergamon Press, 1985. p. 155–210.

DÉCIO, Pâmela. **ESTRESSE CELULAR E ATIVIDADE DE ENZIMAS BIOMARCADORAS EM ABELHAS AFRICANIZADAS *Apis mellifera* LINEU, 1758 (HYMENOPTERA, APIDAE) EXPOSTAS AO TIAMETOXAM**. 2019. [S. l.], 2019.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. *In*: **Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors**. Springer ed. New York. p. 85–95.

DECOURTYE, Axel; ARMENGAUD, Catherine; RENO, Michel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; GAUTHIER, Monique; PHAM-DELÈGUE, Minh Hà. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.).

Pesticide Biochemistry and Physiology, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 83–92, 2004. a. DOI: 10.1016/j.pestbp.2003.10.001.

DECOURTYE, Axel; DEVILLERS, James; CLUZEAU, Sophie; CHARRETON, Mercedes; PHAM-DELÈGUE, Minh-Hà. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 57, p. 410–419, 2004. b. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.001.

DESNEUX, Nicolas; DECOURTYE, Axel; DELPUECH, Jean-Marie. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annu. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 52, p. 81–106, 2007.

DEVKOTA, Kedar; DHAKAL, Shiva Chandra; THAPA, Resham Bahadur. Economics of beekeeping as pollination management practices adopted by farmers in Chitwan district of Nepal. **Agriculture and Food Security**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–6, 2016. DOI: 10.1186/s40066-016-0053-9.

DI NOI, Agata; CASINI, Silvia; CAMPANI, Tommaso; CAI, Giampiero; CALIANI, Ilaria. 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**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 1–22, 2021. DOI: 10.3390/ijerph18041863.

DI PRISCO, Gennaro; CAVALIERE, Valeria; ANNOSCIA, Desiderato; VARRICCHIO, Paola; CAPRIO, Emilio; NAZZI, Francesco; GARGIULO, Giuseppe; PENNACCHIO, Francesco. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 110, n. 46, p. 18466–18471, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1314923110.

DIMITRIADIS, V. K.; KASTRITSIS, C. D. Ultrastructural Analysis of the Midgut of *Drosophila auraria* larvae-Distribution of Alkaline Phosphatase, Acid Phosphatase, Leucine Aminopeptidase, and Glycogen V. **Cytologia**, [S. l.], v. 50, p. 689–700, 1985.

DOMINGUES, Caio E. C.; ABDALLA, Fábio Camargo; BALSAMO, Paulo José; PEREIRA, Beatriz V. R.; HAUSEN, Moema de Alencar; COSTA, Monica Jones; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepato-nephrotoxic system of the Africanized honeybee. **Chemosphere**, [S. l.], v. 186, p. 994–1005, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.133.

DOU. PORTARIA Nº 148. **Diário Oficial da União**, [S. l.], v. 248, 2017.

DUBOVSKIY, IM; KRYUKOVA, NA; GLUPOV, VV; RATCLIFFE, NA. Encapsulation and nodulation in insects. **REVIEW**, [S. l.], p. 229–246, 2016.

DUNN, Peter E. BIOCHEMICAL ASPECTS OF INSECT IMMUNOLOGY. **Ann. Rev. Entomol.**, [S. l.], v. 31, p. 321–339, 1986.

EL-MOHANDES, S. S.; NAFAA, E. A.; FAWZY, A. M. Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 3, p. 213–220, 2010. DOI: 10.21608/EAJBSA.2010.15257.

EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana; GÓIS, Glayciane Costa; SILVA, Claudete Maria Da; SOUZA, Darklê Luiza De; SOUZA, Denize Núbia; SILVA, Patrícia Cândido da Cruz; ALVES, Elisângela de lima; RODRIGUES, Marcelo Luis. Desenvolvimento produtivo de colmeias de abelhas *Melipona scutellaris*. **Biotemas**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 59–64, 2008.

EVGEN'EV, Michael B.; GARBUZ, David G.; ZATSEPINA, Olga G. **Heat Shock Proteins and Whole Body Adaptation to Extreme Environments**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1007/978-94-017-9235-6_5.

FAITA, M. R.; DE MEDEIROS OLIVEIRA, E.; JÚNIOR, V. V. A.; ORTH, A. I., &; NODARI, R. O. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. **Chemosphere**, [S. l.], v. 211, p. 566–572, 2018.

FENG, Hongzu; WANG, Lan; LIU, Yinghong; HE, Lin; LI, Ming; LU, Wencai; XUE, Chuanhua. Molecular characterization and expression of a heat shock protein gene (HSP90) from the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 10, n. 112, p. 1–14, 2010. DOI: 10.1673/031.010.11201.

FERRANDON, Dominique; IMLER, Jean Luc; HETRU, Charles; HOFFMANN, Jules A. The *Drosophila* systemic immune response: Sensing and signalling during bacterial and fungal infections. **Nature Reviews Immunology**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. 862–874, 2007. DOI: 10.1038/nri2194.

FREE, Gary D. Variables affecting guilty pleas and convictions in rape cases: Toward a social theory of rape processing. **Social Forces**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 833–850, 1980.

FREITAS, Breno Magalhães; PINHEIRO, José Nunes. EFEITOS SUB-LETAIS DOS PESTICIDAS AGRÍCOLAS E SEUS IMPACTOS NO MANEJO DE POLINIZADORES DOS AGROECOSSISTEMAS BRASILEIROS. **Oecologia Australis**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 282–298, 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1401.17.

- FREITAS, BRENO MAGALHÃES; SILVA, CLÁUDIA INÊS DA. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil: A polinização. **Agricultura e Polinizadores**, [S. l.], n. 1, p. 10–10, 2015.
- FRYDMAN, Judith. FOLDING OF NEWLY TRANSLATED PROTEINS IN VIVO : The Role of Molecular Chaperones. **Annu. Rev. Biochem.**, [S. l.], p. 603–647, 2001.
- GARIBALDI, Lucas A.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; WINFREE, Rachael; WESTPHA, Catrin; WILLIAMS, Neal; KLEIN, Alexandra M. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. **Science**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1126/science.1230200.
- GARRIDO, Carmen; GURBUXANI, Sandeep; RAVAGNAN, Luigi; KROEMER, Guido. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 286, n. 3, p. 433–442, 2001. DOI: 10.1006/bbrc.2001.5427.
- GARRIDO, Paula Melisa; ANTÚNEZ, Karina; MARTÍN, Mariana; PORRINI, Martín Pablo; ZUNINO, Pablo; EGUARAS, Martín Javier. Immune-related gene expression in nurse honey bees (*Apis mellifera*) exposed to synthetic acaricides. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 59, n. 1, p. 113–119, 2013. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2012.10.019.
- GÄTSCHENBERGER, Heike; AZZAMI, Klara; TAUTZ, Jürgen; BEIER, Hildburg. Antibacterial Immune Competence of Honey Bees (*Apis mellifera*) Is Adapted to Different Life Stages and Environmental Risks. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 6, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0066415.
- GAZZIERO, D. L. .. MISTURAS DE AGROTÓXICOS EM TANQUE NAS PROPRIEDADES AGRÍCOLAS DO BRASIL. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 83–92, 2015.
- GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. a. DOI: 10.1093/jee/tov093.
- GIANNINI, Tereza Cristina; CORDEIRO, Guaraci Duran; FREITAS, Breno M.; SARAIVA, Antonio Mauro; IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lúcia. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of economic entomology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015. b.
- GIESY, John P. ..; DOBSON, Stuart;; SOLOMON, Keith R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Reviews of environmental contamination and**

toxicology, [S. l.], p. 35–120, 2000.

GILLESPIE, P; JEREMY; KANOST, Michael R. ..; TRENCZEK, Tina. Biological mediators of insect immunity. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 611–643, 1997.

GONG, Youhui; DIAO, Qingyun. Current knowledge of detoxification mechanisms of xenobiotic in honey bees. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 0–1, 2017. DOI: 10.1007/s10646-016-1742-7.

GONZÁLEZ-SANTOYO, Isaac; CÓRDOBA-AGUILAR, Alex. Phenoloxidase: A key component of the insect immune system. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, [S. l.], v. 142, n. 1, p. 1–16, 2012. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x.

GOUGH, H. ..; MCINDOE, E. ..; LEWIS, G. .. The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. **Journal of Apicultural Research**, [S. l.], v. 22, p. 119–125, 1994.

GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology** 2013, [S. l.], v. 50, p. 977–987, 2013. a. DOI: 10.1111/1365-2664.12111.

GOULSON, Dave. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 977–987, 2013. b.

GREGORY, Casey L.; FELL, Richard D.; BELDEN, Lisa K.; WALKE, Jenifer B. Classic Hoarding Cages Increase Gut Bacterial Abundance and Reduce the Individual Immune Response of Honey Bee (*Apis mellifera*) Workers. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 1–5, 2022. DOI: 10.1093/jisesa/ieac016.

GRZELAK, Krystyna; KUMARAN, A. Krishna. Developmental changes in the larval fat body during metamorphosis in *Galleria mellonella*. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 32, n. 5, p. 445–453, 1986. DOI: 10.1016/0022-1910(86)90005-3.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. **CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - Gramado**, [S. l.], v. 29, 2014.

HAN, Peng; NIU, Chang Ying; LEI, Chao Liang; CUI, Jin Jie; DESNEUX, Nicolas. Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera* L. **Ecotoxicology**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 1612–1619, 2010. DOI: 10.1007/s10646-010-0546-4.

HAVARD, Tiphaine; LAURENT, Marion; CHAUZAT, Marie-pierre. Hymenoptera :

Apidae): Some Guidance for Research Emerge from a Meta-Analysis. **Diversity**, [S. l.], v. 12, n. 7, p. 1–13, 2020. DOI: doi:10.3390/d12010007.

HEARD, Tim A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 44, n. June, p. 183–206, 1999. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.183.

HELMBRECHT, K.; ZEISE, E.; RENSING, L. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: A review. **Cell Proliferation**, [S. l.], v. 33, n. 6, p. 341–365, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-2184.2000.00189.x.

HELMER, S. H.; KERBAOL, A.; ARAS, P.; JUMARIE, C., &; BOILY, M. Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 22, n. 11, p. 8010–8021, 2015.

HENRY, Mickaël; BÉGUIN, Maxime; REQUIER, Fabrice; ROLLIN, Orianne; ODOUX, Jean François; AUPINEL, Pierrick; APTEL, Jean; TCHAMITCHIAN, Sylvie; DECOURTYE, Axel. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, [S. l.], v. 336, n. 6079, p. 348–350, 2012. DOI: 10.1126/science.1215039.

HERBERT, Lucila T.; VÁZQUEZ, Diego E.; ARENAS, Andrés; FARINA, Walter M. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. **The Company of Biologists Ltd | The Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 217, p. 3457–3464, 2014. DOI: 10.1242/jeb.109520.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. 2016.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores - Parecer técnico nº sei ibama 6220406. **IMinistério do Meio Ambiente**, [S. l.], p. 1–298, 2019.

ILYASOV, Rustem A.; GAIFULLINA, Louisa R.; TYKOVA, El ena S. .. Sal; SKRYAKOV, Al eks andr V. Po; NIKOLENKO, Alexei G. REVIEW OF THE EXPRESSION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE DEFENSIN IN HONEY BEES APIS MELLIFERA L. **Journal of Apicultural Science**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 115–124, 2012. DOI: 10.2478/v10289-012-0013-y.

IPBES, Intergovernmental Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. **Summary for policymakers of the assessment report on pollinators, pollination and food**

production .Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. Bonn, Germany.

JACOB, Cynthia R. O.; SOARES, Hellen M.; NOCELLI, C. F.; MALASPINA, Osmar. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Pest Manag Sci**, [S. l.], v. 71, p. 114–122, 2015. DOI: 10.1002/ps.3776.

JAMES, R. R. ...; XU, J. Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. **Journal of invertebrate pathology**, [S. l.], v. 109, n. 2, p. 175–182, 2012.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; JUNQUEIRA, LMMS. Técnicas básicas de citologia e histologia. **São Paulo: Santos**, [S. l.], p. 124, 1983.

KAIRO, Guillaume et al. Assessment of the toxic effect of pesticides on honey bee drone fertility using laboratory and semifield approaches: A case study of fipronil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 36, n. 9, p. 2345–2351, 2017. DOI: 10.1002/etc.3773.

KAVANAGH, Kevin; REEVES, Emer P. Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 101–112, 2004. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.09.002.

KEELEY, LARRY L. **Physiology and Biochemistry of the Fat Body**. [s.l.] : Pergamon Press Ltd., 1985. v. 2 DOI: 10.1016/b978-0-08-030804-3.50012-1.

KERR, W. E. **Biologia e manejo de meliponíneos**. 1996.

KERR, Warwick Estevam; BUENO, David. NATURAL CROSSING BETWEEN *APIS MELLIFERA ADANSONII* AND *APIS MELLIFERA LIGUSTICA*. **EVOLUTION**, [S. l.], v. 24, p. 145–148, 1970.

KLEIN, Alexandra-Maria; VAISSIÈRE, Bernard E.; CANE, James H.; STEFFAN-DEWENTER, Ingolf; CUNNINGHAM, Saul A.; KREMEN, Claire; TSCHARNTKE, Teja. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **The Royal Society**, [S. l.], p. 303–313, 2007. DOI: 10.1098/rspb.2006.3721.

KORNER, Pius; SCHMID-HEMPEL, Paul. Correlates of parasite load in bumblebees in an Alpine habitat. **Entomological Science**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 151–160, 2005. DOI: 10.1111/j.1479-8298.2005.00113.x.

KRAUTZ, Robert; AREFIN, Badrul; THEOPOLD, Ulrich. Damage signals in the insect immune response. **Plant Science**, [S. l.], v. 5, p. 1–11, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00342.

KREGEL, K. C. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 92, p. 2177–2186, 2002.

- KREMEN, Claire et al. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms : a conceptual framework for the effects of land-use change. **Ecology Letters**, [S. l.], v. 10, p. 299–314, 2007. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x.
- LA MORANDIN, ML Winston. Effects of novel pesticides on bumble bee (Hymenoptera: Apidae) colony health and foraging ability. **Environmental Entomology**, [S. l.], 2003.
- LAMBERT, Olivier et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons : Bees , honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. **Chemosphere**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 98–104, 2012. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.09.025.
- LAUGHTON, Alice M.; BOOTS, Michael; SIVA-JOTHY, Michael T. The ontogeny of immunity in the honey bee, *Apis mellifera* L. following an immune challenge. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 57, n. 7, p. 1023–1032, 2011. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2011.04.020.
- LAVINE, M. D.; STRAND, M. R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, [S. l.], v. 32, p. 1295–1309, 2002.
- LAW, J. H.; WELLS, M. A. Insects as biochemical models. **The Journal of biological chemistry**, [S. l.], v. 264, n. 28, p. 16335–16338, 1989. DOI: 10.1016/s0021-9258(19)84707-5.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. &; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4 ed ed. São Paulo: Savier, 2007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January 2021, p. 315–333, 2019. a. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, p. 315–333, 2019. b. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LI, Sheng; YU, Xiaoqiang; FENG, Qili. Fat body biology in the last decade. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 64, n. January, p. 315–333, 2019. c. DOI: 10.1146/annurev-ento-011118-112007.
- LIMA, L. C. F. Produtos fitossanitários: misturas em tanque. **Cascavel: Ocepar/Coodetec/Associação Nacional de Defesa Vegetal**, [S. l.], 1997.
- LINDQUIST, S. THE HEAT -SHOCK PROTEINS. **Annu. Rev. Genet.**, [S. l.], v. 22, p. 631–677, 1988.
- LIPOVŠEK, Saška; JANŽEKOVIČ, Franc; NOVAK, Tone. Ultrastructure of fat body

cells and Malpighian tubule cells in overwintering *Scoliopteryx libatrix* (Noctuoidea). **Protoplasma**, [S. l.], v. 254, n. 6, p. 2189–2199, 2017. DOI: 10.1007/s00709-017-1110-3.

LOCKE, M. The structure and development of the vacuolar system in the fat body of insects. **Insect ultrastructure. 2 ed. New York: Plenum Press**, [S. l.], p. 151–197, 1984.

LÓPEZ-URIBE, Margarita M.; FITZGERALD, Andrea; SIMONE-FINSTROM, Michael. Inducible versus constitutive social immunity: Examining effects of colony infection on glucose oxidase and defensin-1 production in honeybees. **Royal Society Open Science**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 10–17, 2017. DOI: 10.1098/rsos.170224.

LOVALLO, Naomi; COX-FOSTER, L, Diana. Alteration in FAD–glucose dehydrogenase activity and hemocyte behavior contribute to initial disruption of *Manduca sexta* immune response to *Cotesia congregata* parasitoids. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1037–1048, 1999.

LU, Kai; CHEN, Xia; LIU, Wenting; ZHOU, Qiang. Identification of a heat shock protein 90 gene involved in resistance to temperature stress in two wing-morphs of *Nilaparvata lugens* (Stål). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S. l.], v. 197, p. 1–8, 2016. DOI: 10.1016/J.CBPA.2016.02.019.

LYCETT, G. C.; MCLAUGHLIN, L. A.; RANSON, H.; HEMINGWAY, J.; KAFATOS, F. C.; LOUKERIS, T. G.; PAINE, M. J. I. *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and in vivo knockdown increases permethrin susceptibility. **Insect Molecular Biology**, [S. l.], p. 7, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2586.2006.00647.x.

MAGGI, Matías et al. Honeybee health in South America. **Apidologie**, [S. l.], v. 47, n. 6, p. 835–854, 2016. DOI: 10.1007/s13592-016-0445-7.

MALASPINA, Osmar; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M. Cell makers for ecotoxicological studies in target organs of bees. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, [S. l.], p. 2006, 2006.

MANJON, Cristina et al. **Unravelling the Molecular Determinants of Bee Sensitivity to Neonicotinoid Insecticides** *Current Biology*. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1016/j.cub.2018.02.045.

MARIMOTO, R. I. ...; TISSIERES, A. ...; GEORGOPOULOUS, C. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press . 1994. **New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press**, [S. l.], 1994.

MARTINS, Gustavo Ferreira; RAMALHO-ORTIGÃO, J. M. Oenocytes in insects.

Invertebrate Survival Journal, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 139–152, 2012.

MASON, Rosemary. Immune Suppression by Neonicotinoid Insecticides at the Root of Global Wildlife Declines. **Journal of Environmental Immunology and Toxicology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 3, 2013. DOI: 10.7178/jeit.1.

MATTSON, Mark P.; CALABRESE, Edward J. **Hormesis: A revolution in biology, toxicology and medicine**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-1-60761-495-1.

MCKINSTRY, Mia; CHUNG, Charlie; TRUONG, Henry; JOHNSTON, Brittany A.; SNOW, Jonathan W. The heat shock response and humoral immune response are mutually antagonistic in honey bees. **Scientific Reports**, [S. l.], p. 1–14, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-09159-4.

MDIC (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, Comércio Exterior e Serviços). **[http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais 2020](http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais)** MDIC, 2022 **<https://www.gov.br/produtividade-e-comercio-exterior/pt-br/assuntos/comercio-exterior/estatisticas/>**. 2022. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais> 2020.

MEUNIER, Joël. Social immunity and the evolution of group living in insects. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 370, n. 1669, p. 19–21, 2015. DOI: 10.1098/rstb.2014.0102.

MEYER, T. N.; SILVA, A. L. Resposta celular ao estresse. **Rev Ass Med Brasil 1999**;, [S. l.], p. 181–188, 1999.

MOFFAT, Christopher; PACHECO, Joao Goncalves; SHARP, Sheila; SAMSON, Andrew J.; BOLLAN, Karen A.; HUANG, Jeffrey; BUCKLAND, Stephen T.; CONNOLLY, Christopher N. Chronic exposure to neonicotinoids increases neuronal vulnerability to mitochondrial dysfunction in the bumblebee (*Bombus terrestris*). **The FASEB Journal** •, [S. l.], 2019. DOI: 10.1096/fj.14-267179.

MORITZ, Robin F. A.; DE MIRANDA, Joachim; FRIES, Ingemar; LE CONTE, Yves; NEUMANN, Peter; PAXTON, Robert J. Research strategies to improve honeybee health in Europe. **Apidologie**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 227–242, 2010. DOI: 10.1051/apido/2010010.

MOSSER, Dick D.; CARON, Antoine W.; BOURGET, Lucie; DENIS-LAROSE, Claude; HP, Canada. Role of the Human Heat Shock Protein hsp70 in Protection against Stress-Induced Apoptosis. **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY**, [S. l.], v. 17, n. 9, p. 5317–5327, 1997.

NAZIR, Aamir; SAXENA, Daya Krishna;; CHOWDHURI, Debapratim Kar. Induction of hsp70 in transgenic Drosophila: biomarker of exposure against phthalimide group of chemicals. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, [S. l.], v. 191621, n. 2, p. 218–225, 2003.

NAZZI, Francesco; LE CONTE, Yves. Ecology of Varroa destructor, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, Apis mellifera. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 61, p. 417–432, 2016. DOI: 10.1146/annurev-ento-010715-023731.

NEGRI, Pedro; MAGGI, Matias D.; RAMIREZ, Leonor; DE FEUDIS, Leonardo; SZWARSKI, Nicolás; QUINTANA, Silvina; EGUARAS, Marin J.; LAMATTINA, Lorenzo. Abscisic acid enhances the immune response in Apis mellifera and contributes to the colony fitness. **Apidologie**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 542–557, 2015. DOI: 10.1007/s13592-014-0345-7.

NEGRI, Pedro; QUINTANA, Silvina; MAGGI, Matias; SZAWARSKI, Nicolas; LAMATTINA, Lorenzo; EGUARAS, Martin. Apis mellifera hemocytes generate increased amounts of nitric oxide in response to wounding/encapsulation. **Apidologie**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 610–617, 2014. DOI: 10.1007/s13592-014-0279-0.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. Uso de atrativos e repelentes na polinização dirigida. **In: ANAIS ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., Ribeirão Preto**, [S. l.], p. 21–27, 1998.

NOVAIS, Samuel M. A.; NUNES, Cassio A.; SANTOS, Natália B.; D'AMICO, Ana R.; FERNANDES, G. Wilson; QUESADA, Mauricio; BRAGA, Rodrigo F.; NEVES, Ana Carolina O. Effects of a Possible Pollinator Crisis on Food Crop Production in Brazil. **PloS one**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1–12, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0167292.

NUNES, Lorena Andrade; PINTO, Maria de Fátima Ferreira da Costa; CARNEIRO, Paulo; PEREIRA, Derval Gomes; WALDSCHMIDT, Ana Maria. GENETIC DIVERGENCE IN Melipona scutellaris LATREILLE (Hymenoptera: Apidae) ON THE BASIS OF MORPHOLOGIC CHARACTERS. **Biosci. J., Uberlândia**, [S. l.], v. 23, p. 1–9, 2007.

OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test t, n.214. **GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. Honeybees**, [S. l.], p. 7, 1998.

PAES DE OLIVEIRA, V. T. ..; CRUZ-LANDIM, C. Size. Size of fat body trophocytes and the ovarian development in workers and queens of Melipona quadrifasciata anthidioides. **Sociobiology**, [S. l.], p. 701–709, 2003.

PETROS, AM; OLEJNICZAK, ET; FESIK, SW. Structural biology of the Bcl-2 family

of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1644, n. 2–3, p. 84–93, 2004.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A. e; ALCÂNTARA NETO, F. INCOMPATIBILIDADE FÍSICA DE MISTURAS ENTRE HERBICIDAS E INSETICIDAS. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 449–457, 2012.

PETTIS, Jeffery S.; LICHTENBERG, Elinor M.; ANDREE, Michael; STITZINGER, Jennie; ROSE, Robyn; VANENGELSDORP, Dennis. Crop Pollination Exposes Honey Bees to Pesticides Which Alters Their Susceptibility to the Gut Pathogen *Nosema ceranae*. **Plos One**, [S. l.], v. 8, n. 7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0070182.

PILLING, Edward D. ..; JEPSON, Paul C. Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). **Pesticide Science**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 293–297, 1993.

PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. D. S.; CHAM, K. O.; VIANA-SILVA, F. E. C.; BORGES, L. O.; TONELLI, C. A. M.; CIONE, A. P. Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos. **Brasília: Ibama**, [S. l.], 2018.

POLETTAA, G. L.; LARRIERA, A.; KLEINSORGE, E.; MUDRY, M. D. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. **Mutation Research**, [S. l.], p. 95–102, 2009. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2008.10.007.

POTTS, Simon G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature Publishing Group**, [S. l.], v. 540, n. 7632, p. 220–229, 2016. DOI: 10.1038/nature20588.

POTTS, Simon G.; BIESMEIJER, Jacobus C.; KREMEN, Claire; NEUMANN, Peter; SCHWEIGER, Oliver; KUNIN, William E. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010. DOI: 10.1016/j.tree.2010.01.007.

POWNER, Michael B.; SALT, Thomas E.; HOGG, Chris; JEFFERY, Glen. Improving Mitochondrial Function Protects Bumblebees from Neonicotinoid Pesticides. **PloS one**, [S. l.], p. 1–11, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0166531.

PRADO, Fernanda Scavassa Ribeiro. **Análise cromatográfica da abamectina e do difenoconazol em amostras de tecido de abelhas da espécie *Melipona scutellaris* e avaliação de efeitos de biomarcadores bioquímicos**. 2020. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2020.

QIAO, Li; WU, Jun X.; QIN, Dao Z.; LIU, Xiang C.; LU, Zhao C.; LV, Li Z.; PAN, Zi L.; CHEN, Hao; LI, Guang W. Gene expression profiles of heat shock proteins 70 and 90 from *Empoasca onukii* (Hemiptera: Cicadellidae) in response to temperature stress.

Journal of Insect Science, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–12, 2015. DOI: 10.1093/jisesa/iev030.

REEVES, Alison M.; O'NEAL, Scott T.; FELL, Richard D.; BREWSTER, Carlyle C.; ANDERSON, Troy D. In-hive acaricides alter biochemical and morphological indicators of honey bee nutrition, immunity, and development. **Journal of Insect Science**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 1–6, 2018. DOI: 10.1093/jisesa/iey086.

RICKETTS, Taylor H. et al. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? **Ecology Letters**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 499–515, 2008. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x.

ROBERT, B.; JR, Bowers; GEORGE, N.; ALKALINE, Solomon. **Alkaline phosphatase**. [s.l.] : Springer Science & Business Media, 2013.

RÖHL, Alina; ROHRBERG, Julia;; BUCHNER, Johannes. The chaperone Hsp90: changing partners for demanding clients. **Trends in biochemical sciences**, [S. l.], v. 138, n. 5, p. 253–262, 2013.

ROMA, Gislaine Cristina; BUENO, Odair Corrêa; CAMARGO-MATHIAS, Maria Izabel. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: A review. **Micron**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 395–401, 2010. DOI: 10.1016/j.micron.2009.12.007.

ROMER, Franz; EMMERICH, Hans;; NOWOCK, Joachim. Biosynthesis of ecdysones in isolated prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor* in vitro. **Journal of insect physiology**, [S. l.], v. 20, n. 10, p. 1975–1987, 1974.

RONDEAU, Gary; SÁNCHEZ-BAYO, Francisco; TENNEKES, Henk A.; DECOURTYE, Axel; RAMÍREZ-ROMERO, Ricardo; DESNEUX, Nicolas. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 4, p. 1–8, 2014. DOI: 10.1038/srep05566.

ROSSI, Caroline de Almeida; ROAT, Thaisa Cristina; TAVARES, Daiana Antonia; CINTRA-SOCOŁOWSKI, Priscila; MALASPINA, Osmar. Brain Morphophysiology of Africanized Bee *Apis mellifera* Exposed to Sublethal Doses of Imidacloprid. **Arch Environ Contam Toxicol**, [S. l.], p. 234–243, 2013. DOI: 10.1007/s00244-013-9897-1.

RUBIO, Fernando; GUO, Emily; KAMP, Lisa. Survey of Glyphosate Residues in Honey , Corn and Soy Products. **Environmental & Analytical Toxicology**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2014. DOI: 10.4172/2161-0525.1000249.

SCHMID-HEMPEL, Paul. Evolutionary ecology of insect immune defenses. **Annual review of entomology**, [S. l.], v. 50, p. 529, 2005.

SCHMID, Martin R.; BROCKMANN, Axel; PIRK, Christian W. W.; STANLEY, David W.; TAUTZ, Jürgen. Adult honeybees (*Apis mellifera* L.) abandon hemocytic, but not

phenoloxidase-based immunity. **Journal of Insect Physiology**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 439–444, 2008. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2007.11.002.

SGOLASTRA, Fabio et al. Synergistic interactions between pesticides in three bee species. **Pest Management Science**, [S. l.], p. doi: 10.1002/ps.4449, 2016. DOI: 10.1002/ps.4449.

SHORTER, James. The Mammalian Disaggregase Machinery: Hsp110 Synergizes with Hsp70 and Hsp40 to Catalyze Protein Disaggregation and Reactivation in a Cell-Free System. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 10, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0026319.

SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; GREGORC, Ales; MORAES, Regina L. M. S. In situ localization of heat-shock proteins and cell death labelling in the salivary gland of acaricide-treated honeybee larvae *. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, p. 507–516, 2006. DOI: 10.1051/apido.

SILVA, Mariana Barrotti Da; NOCELLI, Roberta Cornélio Ferreira; SOARES, Hellen Maria; MALASPINA, Osmar. Efeitos do imidacloprido sobre o comportamento das abelhas *Scaptotrigona postica* Latreille , 1807 (Hymenoptera , Apidae). **Ciência, Tecnologia e Ambiente**, [S. l.], 2016.

SIVA-JOTHY, Michael T.; MORET, Yannick; ROLFF, Jens. **Insect Immunity : An Evolutionary Ecology Perspective**. [s.l: s.n.]. v. 32 DOI: 10.1016/S0065-2806(05)32001-7.

SIVITER, Harry; BAILES, Emily J.; MARTIN, Callum D.; OLIVER, Thomas R.; KORICHEVA, Julia; LEADBEATER, Ellouise; BROWN, Mark J. F. Agrochemicals , but not other stressors , interact synergistically to increase bee mortality. [S. l.], [s.d.].

SLAA, Ester Judith; SÁNCHEZ CHAVES, Luis Alejandro; MALAGODI-BRAGA, Katia Sampaio; HOFSTEDDE, Frouke Elisabeth. Stingless bees in applied pollination: Practice and perspectives. **Apidologie**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 293–315, 2006. DOI: 10.1051/apido:2006022.

SOARES-LIMA, Hellen Maria. **EFEITOS COMBINADOS DE *Nosema ceranae* E DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* AFRICANIZADA**. 2017. [S. l.], 2017.

SOLOMON, Keith; THOMPSON, Dean. Ecological Risk Assessment for Aquatic Organisms from Over-Water Uses of Glyphosate FROM OVER-WATER USES OF GLYPHOSATE. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, [S. l.], v. 7404, 2003. DOI: 10.1080/10937400306468.

STEINMANN, Nadja; CORONA, Miguel; NEUMANN, Peter; DAINAT, Benjamin.

Overwintering is associated with reduced expression of immune genes and higher susceptibility to virus infection in honey bees. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 1–18, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0129956.

SUCHAIL, Séverine; DEBRAUWER, Laurent; BELZUNCES, Luc P. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 291–296, 2004. DOI: 10.1002/ps.772.

SUN, S. M.; ZHU, J.; GE, X. P.; ZHANG, C. F.; MIAO, L. H.; JIANG, X. J. Cloning and expression analysis of a heat shock protein 90 β isoform gene from the gills of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) subjected to nitrite stress. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 3036–3051, 2015. DOI: 10.4238/2015.April.10.14.

TAKEUCHI, Hideaki; PAUL, Rajib Kumar; MATSUZAKA, Emiko; KUBO, Takeo. EcR-A expression in the brain and ovary of the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Zoological Science**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 596–603, 2007. DOI: 10.2108/zsj.24.596.

TAVARES, Daiana Antonia; DUSSAUBAT, Claudia; KRETZSCHMAR, André; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine C. M.; MALASPINA, Osmar; BÉRAIL, Géraldine; BRUNET, Jean Luc; BELZUNCES, Luc P. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 229, p. 386–393, 2017. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.05.092.

TAVARES, Daiana Antonia; ROAT, Thaisa Cristina; CARVALHO, Stephan Malfitano; SILVA-ZACARIN, Elaine Cristina Mathias; MALASPINA, Osmar. Chemosphere In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, [S. l.], v. 135, p. 370–378, 2015. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.090.

TOLEDO, R. J. ...; GUILLÉN, S. D. Effect of the concentration of glyphosate present in body waters near transgenic soybean fields on the honeybee *Apis mellifera*, and the stingless bee *Tetragonisca angustula*. **Acta Zoológica Mexicana**, [S. l.], v. 30, p. 408–413, 2014.

TOMIZAWA, Motohiro; CASIDA, John E. SELECTIVE TOXICITY OF NEONICOTINOIDS ATTRIBUTABLE TO SPECIFICITY OF INSECT AND MAMMALIAN NICOTINIC RECEPTORS. **Annu. Rev. Entomol**, [S. l.], p. 339–364, 2003. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112731.

TOMIZAWA, Motohiro; OTSUKA, Hiroko; MIYAMOTO, Toru; YAMAMOTO, Izuru;

ELDEFRAWI, Mohyee E. Pharmacological Characteristics of Insect Nicotinic Acetylcholine Receptor with Its Ion Channel and the Comparison of the Effect of Nicotinoids and Neonicotinoids. **Journal of Pesticide Science**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 57–64, 1995. DOI: 10.1584/jpestics.20.57.

TONI, Luís R. M.; SANTANA, Henrique De. Divulgação. [S. l.], v. 29, n. 4, p. 829–833, 2006.

TORNISIELO, Valdemar Luiz; BOTELHO, Rafael Grossi; ALVES, Paulo Alexandre de Toledo; BONFLEUR, Eloana Janice; MONTEIRO, Sergio Henrique. Pesticide Tank Mixes: An Environmental Point of View. **Intech**, [S. l.], p. 17, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/55948>.

TOSI, S.; SFEIR, C.; CARNESECCHI, E., &; CHAUZAT, M. P. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools. **Science of The Total Environment**, [S. l.], p. 156857, 2022.

TOSI, Simone; COSTA, Cecilia; VESCO, Umberto; QUAGLIA, Giancarlo; GUIDO, Giovanni. A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 615, p. 208–218, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.226.

TSUTSUMI, Shinji; NECKERS, Len. Extracellular heat shock protein 90: A role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. **Cancer Science**, [S. l.], v. 98, n. 10, p. 1536–1539, 2007. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00561.x.

VABULAS, R. Martin; RAYCHAUDHURI, Swasti; HAYER-HARTL, Manajit; HARTL, F. Ulrich. Protein folding in the cytoplasm and the heat shock response. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, [S. l.], v. 2, n. 12, p. 19, 2010. DOI: 10.1101/cshperspect.a004390.

VANDERPLANCK, Maryse et al. Monitoring bee health in European agroecosystems using wing morphology and fat bodies. **One Ecosystem**, [S. l.], v. 6, p. 16, 2021. DOI: 10.3897/oneeco.6.e63653.

VESTERLUND, S. R.; LILLEY, T. M.; VAN OOIK, T.; SORVARI, J. The effect of overwintering temperature on the body energy reserves and phenoloxidase activity of bumblebee *Bombus lucorum* queens. **Insectes Sociaux**, [S. l.], v. 61, n. 3, p. 265–272, 2014. DOI: 10.1007/s00040-014-0351-9.

VIDAU, Cyril et al. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by nosema ceranae. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 6, n. 6, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0021550.

- VLAHOVIĆ, M.; LAZAREVIĆ, J.; PERIĆ-MATARUGA, V.; ILIJIN, L., &; MRDAKOVIĆ, M. Plastic responses of larval mass and alkaline phosphatase to cadmium in the gypsy moth larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 72, n. 4, p. 1148–1155, 2009.
- WHITE, Jonathan W.; SUBERS, Mary H.; SCHEPARTZ, Abner I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. **BBA - Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 73, n. 1, p. 57–70, 1963. DOI: 10.1016/0006-3002(63)90359-7.
- WILLIAMSON, Sally M.; WRIGHT, Geraldine A. Exposure to multiple cholinergic pesticides impairs olfactory learning and memory in honeybees. **Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 216, n. 10, p. 1799–1807, 2013. DOI: 10.1242/JEB.083931.
- WILSON-RICH, Noah; SPIVAK, Marla; FEFFERMAN, Nina H.; STARKS, Philip T. Genetic, individual, and group facilitation of disease resistance in insect societies. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 54, n. October, p. 405–423, 2009. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093301.
- WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, n. December 2016, p. 96–103, 2017. a. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.
- WOJDA, Iwona. Temperature stress and insect immunity. **Journal of Thermal Biology**, [S. l.], v. 68, p. 96–103, 2017. b. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.12.002.
- WOLOWSKI, Marina et al. **Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.4322/978-85-60064-83-0.
- YOKOYAMA, Naoaki; HIRATA, Mineo; OHTSUKA, Kenzo; NISHIYAMA, Yukihiro; KEN, Fujii; FUJITA, Masatoshi; KUZUSHIMA, Kiyotaka; KIYONO, Tohru; TSURUMI, Tatsuya. Co-expression of human chaperone Hsp70 and Hsdj or Hsp40 co-factor increases solubility of overexpressed target proteins in insect cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1493, p. 119–124, 2000.
- ZHANG, Wenjun; JIANG, Fubin; OU, Jianfeng. Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. **International Academy of Ecology and Environmental Sciences**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 125–144, 2011.
- ZHU, Yu Cheng; YAO, Jianxiu; ADAMCZYK, John; LUTTRELL, Randall. Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). **PLoS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. 1–19, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0178421.

