

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 12/02/2024.



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

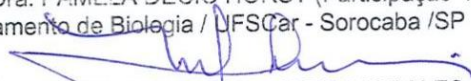
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:



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 conseqüentemente, a diversidade de plantas em área naturais e a quantidade e a qualidade da produção de alimentos, justificando a necessidade de condução de estudos dessa natureza.

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 MDIC, 2022](http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais)** **<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](http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais).

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, Gislaïne 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.

