

**INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**

**TOXICIDADE DE INSETICIDA À BASE DE
IMIDACLOPRIDO EM ABELHAS NATIVAS E PLANÁRIAS
DE ÁGUA DOCE**

Autora: Aline Arantes de Oliveira
Orientador: Dr. Althiéris de Souza Saraiva

Rio Verde - GO
Fevereiro - 2023

**INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**

**TOXICIDADE DE INSETICIDA À BASE DE
IMIDACLOPRIDO EM ABELHAS NATIVAS E PLANÁRIAS
DE ÁGUA DOCE**

**Autora: Aline Arantes de Oliveira
Orientador: Dr. Althiéris de Souza Saraiva**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde – Área de concentração Agroquímica Ambiental.

Rio Verde - GO
Fevereiro – 2023

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

048t Oliveira, Aline Arantes de
Toxicidade de inseticida à base de Imidacloprido em abelhas nativas e planárias de água doce / Aline Arantes de Oliveira; orientador Althiéris de Souza Saraiva; co-orientador Marilene Silva Oliveira. -- Rio Verde, 2023.
143 p.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2023.

1. Neonicotinoides. 2. Organismos terrestres. 3. Organismos aquáticos. 4. Efeito letal. 5. Efeito subletal. I. Saraiva, Althiéris de Souza, orient. II. Oliveira, Marilene Silva, co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- Tese (doutorado) Artigo científico
 Dissertação (mestrado) Capítulo de livro
 Monografia (especialização) Livro
 TCC (graduação) Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Aline Arantes de Oliveira

Matrícula:

2020203310310032

Título do trabalho:

TOXICIDADE DE INSETICIDA À BASE DE IMIDACLOPRIDO EM ABELHAS NATIVAS E PLANÁRIAS DE
ÁGUA DOCE

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 16 / 02 / 2023

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

gov.br
Documento assinado digitalmente
ALINE ARANTES DE OLIVEIRA
Data: 16/02/2023 14:35:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Rio Verde

Local

16 / 02 / 2023

Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Aline Arantes de Oliveira

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 129/2022 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

TOXICIDADE DE INSETICIDA À BASE DE IMIDACLOPRIDO EM ABELHAS NATIVAS E PLANÁRIAS DE
ÁGUA DOCE

Autora: Aline Arantes de Oliveira
Orientadora: Althiéris de Souza Saraiva

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica - Área de Concentração Agroquímica

APROVADA em 21 de dezembro de 2022.

Prof.^a Dr.^a Daniela de Melo e
Silva
Avaliadora
externa - Universidade Federal de
Goiás

Prof.^a Dr.^a Andreia do Carmo
Martins Rodrigues
Avaliadora externa - Universidade
de Aveiro

Prof. Dr. Althiéris de Souza Saraiva
Presidente da Banca - IF Goiano / Campus Campos Belos

Documento assinado eletronicamente por:

- **Andreia do Carmo Martins Rodrigues, Andreia do Carmo Martins Rodrigues - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano (1)**, em 21/12/2022 17:36:52.
- **Daniela de Melo e Silva, Daniela de Melo e Silva - Professor Avaliador de Banca - Universidade Federal de Goiás (01567601000143)**, em 21/12/2022 17:36:52.
- **Althieris de Souza Saraiva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 21/12/2022 17:34:42.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 16/12/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 454101
Código de Autenticação: 8b701915fa



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus. Sem Ele, nada seria possível.

Aos meus pais Ednilson Ferreira e Clausimar Oliveira, por sempre acreditarem em mim e por abdicarem de prioridades em suas vidas em prol das realizações e da felicidade de seus filhos.

Ao meu irmão Carlos Henrique Oliveira e à minha cunhada Abigail Oliveira, por sua preocupação, carinho e incentivo.

À minha avó paterna Alzira Ferreira e a meus avós maternos (*in memoriam*), Joaquim Oliveira e Laide de Oliveira.

À minha madrinha Nara Nibia Aguiar e à minha sobrinha (princesa) Júlia Oliveira, por todo amor, incentivo, apoio e compreensão.

Também ao meu orientador, professor Dr. Althiéris Saraiva, por sempre me apoiar e nunca desistir.

DEDICO.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo, fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus, por me guiar e me dar forças durante todo o processo de elaboração desta dissertação.

À minha família, especialmente minha mãe Clausimar Oliveira, meu pai Ednilson Ferreira, que sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

À minha sobrinha Júlia Oliveira e aos meus sobrinhos, inclusive de consideração, Gabrielle Brito, Victor Gabriel Brito, Gilberto Alarcão e Joaquim Alarcão, bem como à minha afilhada Anne Brito, que respeitaram meus momentos de dedicação.

Aos meus parentes, amigos e colegas, Silvanei Borges, Eva Oliveira, Caroline Viectro, Cibelle Ferreira, Lillyan Karla Nascimento, Wirtonay Marques, Kamila Michele Brito, Ariane Prado, Rodrigo Bandeira, Rosa Helena Parreira, Íris Cardoso e Luiza Rodrigues.

Agradeço também ao meu orientador, professor Dr. Althiéris Saraiva, pelo apoio e orientação constantes.

Agradeço a todos que abriram as portas de seus espaços e laboratórios para mim, como o Grupo de Conservação em Agroecossistema e Ecotoxicologia, o Laboratório de Águas e Efluentes e o Laboratório de Estudos Aplicados em Fisiologia Vegetal (Leticia Sousa, Rauander Alves, Dra. Fernanda Farnese e Dr. Paulo Pereira).

Agradeço ainda ao professor Dr. Fabiano Silva e a Bruno Dário, pelo apoio no desenvolvimento do meu projeto, no âmbito do Laboratório Biotecnologia e Fisiologia Vegetal (Complexo) e suas dependências.

E às instituições de ensino IF Goiano, Campus Rio Verde e Campus Campos Belos, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Também aos apoiadores e financiadores Abelhando Mundo Afora, Guardião das Abelhas, Casa do Mel Imperial, Sumitomo Chemical, Macpet, Dr. Antonio Aguiar, Dr. Fernando Farache, Dra. Lia Raquel e Sr. Euripedes Oliveira.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Aline Arantes de Oliveira é uma profissional com formação diversificada na área da saúde e educação. Ela é gestora hospitalar e pedagoga, com especialização em Auditoria, Administração Hospitalar (MBA), Educação Inclusiva e Educação 4.0. Além disso, ela tem curso Técnico em Segurança do Trabalho e está atualmente cursando graduação em Ciências Biológicas e doutorado em Ciências Ambientais. Nascida em Rio Verde - Goiás, Aline tem experiência em trabalhos administrativos que lhe permitiram residir por dois anos em Buenos Aires. Após o retorno ao Brasil, ela tem se dedicado ao desenvolvimento de novas habilidades, especialmente na área da ecotoxicologia e conservação ambiental.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Uso de Agrotóxicos na Agricultura em Nível Mundial com Ênfase no Brasil	16
2.2 Uso de Inseticidas Neonicotinoides na Agricultura	17
2.3 Impacto de Inseticidas à Base de Imidacloprido no Ambiente Terrestre e Aquático	18
2.4 Bioindicadores de Contaminação Ambiental.....	20
OBJETIVOS	22
3.1 Geral	22
3.2 Específicos	22
CAPÍTULO I	
ARTIGO DE REVISÃO - CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR INSETICIDAS NEONICOTINOIDES: A ECOTOXICOLOGIA COMO FERRAMENTA DE BIOMONITORAMENTO	23
4.1 Uso dos Inseticidas Neonicotinoides na Produção Agropecuária.....	25
4.2 História e Legislação dos Neonicotinoides no Brasil e no Mundo.....	25
4.3 Efeitos de Indiretos de Neonicotinoides sobre a Saúde Humana	27
4.4 O Impacto dos Inseticidas Neonicotinoides no Meio Ambiente	28
4.5 A Ecotoxicologia como Ferramenta de Biomonitoramento de Contaminação por Inseticidas Neonicotinoides	29
4.6 Discussão	31
4.7 Considerações	34
4.8 Referências	34
CAPÍTULO II	
ARTIGO TÉCNICO - CAPTURA E MANEJO DE ABELHAS NATIVAS: UM GUIA NO ÂMBITO DE MANUTENÇÃO DE CULTURAS PARA USO EM ENSAIOS LABORATORIAIS	41
5.1 Importância e Relevância	43
5.2 Etapas Para Captura, Manejo e Criação de Abelhas Nativas Sem Ferrão – Com Enfoque em Ninhos.....	43
5.3 Coleta de Abelhas	50
5.4 Principais Erros	51
5.5 Importância dos Meliponários nas Instituições de Ensino	52
5.6 Considerações	52
5.7 Referências	53

CAPÍTULO III**ARTIGO ORIGINAL - SENSIBILIDADE DE ABELHAS MELIPONINI DO GÊNERO *Tetragonisca* À TOXICIDADE DE IMIDACLOPRIDO**..... 57

6.1 Introdução	60
6.2 Material e Métodos	61
6.2.1 Cultura de Abelhas	61
6.2.2 Aquisição dos Inseticidas	62
6.2.3 Ensaios de Toxicidade Aguda	62
6.2.4 Análise Estatística dos Dados	63
6.3 Resultados	63
6.4 Discussão	67
6.5 Referências	70

CAPÍTULO IV**ARTIGO ORIGINAL - BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE IMIDACLOPRIDO AFETAM A SOBREVIVÊNCIA DE *Tetragona clavipes* NUM CURTO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO (24H)**..... 73

7.1 Introdução	75
7.2 Material e Métodos	76
7.2.1 Cultura de Abelhas	76
7.2.2 Aquisição dos Inseticidas	77
7.2.3 Ensaios de Toxicidade Aguda	77
7.2.4 Análise Estatística dos Dados	78
7.3 Resultados	78
7.4 Discussão	81
7.5 Referências	82

CAPÍTULO V**ARTIGO ORIGINAL – EFEITO DE IMIDACLOPRIDO SOBRE A PLANÁRIA *Girardia tigrina*: ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS DE SOBREVIVÊNCIA, LOCOMOÇÃO, REGENERAÇÃO E FECUNDIDADE**..... 87

8.1 Introdução	89
8.2 Material e Métodos	90
8.2.1 Aquisição do Produto Comercial	90
8.2.2 Aquisição e Manutenção da Cultura	90
8.2.3 Ensaios Agudos	91
8.2.4 Ensaios Crônicos de Regeneração e Locomoção	91
8.2.4.1 Atividade Locomotora	92
8.2.4.2 Regeneração – Quimiorreceptores e Fotorreceptores	92
8.2.5 Exposição Crônica para Avaliação da Reprodução.....	92
8.3 Análise Estatística	93
8.4 Resultados	93
8.4.1 Efeito Crônico do Inseticida Imidagold 700 WG.....	94
8.4.1.1 Atividade Locomotora.....	94
8.4.1.2 Regeneração – Quimiorreceptores e Fotorreceptores	94
8.4.1.3 Reprodução – Fecundidade	95
8.5 Discussão	95
8.6 Referências	98

CONCLUSÃO GERAL	104
------------------------------	-----

REFERÊNCIAS	105
APÊNDICE A – LEVANTAMENTO REGIONAL	127
APÊNDICE B – FORNECEDORES, CULTURAS E INSETOS-ALVO	128
APÊNDICE C – DESENHOS EXPERIMENTAIS (AGUDO - ABELHAS)	129
APÊNDICE D – DESENHOS EXPERIMENTAIS (AGUDO - PLANÁRIAS)	130
APÊNDICE E – DESENHOS EXPERIMENTAIS (CRÔNICO - PLANÁRIAS)	131
APÊNDICE F – GRAPHICAL ABSTRACT (BIOMONITORAMENTO)	132
APÊNDICE G – APARATO EXPERIMENTAL (NÉVOA)	133
APÊNDICE H – COMPILADO DE IMAGENS (ORGANISMOS TESTE - ABELHAS)	134
ANEXO A – ORGANISMO TESTE (CAPTURA DE ABELHAS)	135
ANEXO B – ORGANISMO TESTE (PLANÁRIA)	136
ANEXO C – CRONOGRAMA EXPERIMENTAL (ABELHAS)	137
ANEXO D – CARTA DE REVISÃO E CORREÇÃO LINGUÍSTICA	138

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO III

Figura 1 - Mortalidade de abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i> expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Imidacloprido	65
Figura 2 - Mortalidade de abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i> expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Imidacloprido.....	65
Figura 3 - Mortalidade de abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i> expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Dimetoato	66
Figura 4 - Mortalidade de abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i> expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Dimetoato	67

CAPÍTULO IV

Figura 1 - Mortalidade de abelhas <i>Tetragona</i> expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Imidacloprido.....	79
Figura 2 - Mortalidade de abelhas <i>Tetragona</i> expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Imidacloprido.....	79
Figura 3 - Mortalidade de abelhas <i>Tetragona</i> expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Dimetoato	80
Figura 4 - Mortalidade de abelhas <i>Tetragona</i> expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Dimetoato	80

CAPÍTULO V

Figura 1 - Mortalidade de planárias <i>Girardia tigrina</i> expostas a concentrações letais de inseticida à base de Imidacloprido.....	93
Figura 2 - Efeito crônico de Imidacloprido em <i>Girardia tigrina</i> – locomoção total (cm), no escuro.....	94
Figura 3 - Regenerações, medidas em dias até as formações completas dos quimiorreceptores e fotorreceptores (8 dias de exposição)	94
Figura 4 - Taxa de fecundidade de <i>Girardia tigrina</i> apresentada como equação de regressão linear (n=15 planárias, pelo período de quatro semanas)	95

ÍNDICE DE TABELAS

Página

INTRODUÇÃO

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas e concentrações ambientais do Imidacloprido.	14
---	----

CAPÍTULO I

Tabela 1 – Resumo das espécies testadas e condições associadas para análise atualizada da toxicidade de neonicotinoides em organismos de solo e abelhas (2019 a 2022)	30
Tabela 2 – Resumo das espécies testadas e condições associadas para análise atualizada da toxicidade de neonicotinoides em vertebrados e invertebrados aquáticos (2019 a 2022).....	31

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Imidacloprido sobre abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i>	64
Tabela 2 – Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Imidacloprido sobre abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i>	64
Tabela 3 – Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Dimetoato sobre abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i>	65
Tabela 4 – Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Dimetoato sobre abelhas do gênero <i>Tetragonisca</i>	66

CAPÍTULO IV

Tabela 1 – Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Imidacloprido sobre <i>Tetragona clavipes</i>	78
Tabela 2 – Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Imidacloprido sobre <i>Tetragona clavipes</i>	78
Tabela 3 – Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Dimetoato sobre <i>Tetragona clavipes</i>	79
Tabela 4 – Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Dimetoato sobre <i>Tetragona clavipes</i>	80

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

%	Porcentagem
µg/kg	microgramas por quilograma
µg/L	microgramas por litro
ACE	Acetamiprido
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
CE ₅₀	Concentração Efetiva (concentração que causa 50% do efeito máximo)
CENO	Concentração de Efeito Não Observado (maior concentração sem efeitos adversos)
CEO	Concentração de Efeito Observado (menor concentração que observa efeito)
CL ₁₀	Concentração Letal para 10% dos organismos (letalidade em 10% dos organismos)
CL ₅₀	Concentração Letal para 50% dos organismos (letalidade em 50% dos organismos)
CL ₉₀	Concentração Letal para 90% dos organismos (letalidade em 90% dos organismos)
CLO	Clotianidina
cm	centímetros
DM	Dimetoato
DL ₅₀	Dose Letal (quantidade de ingrediente ativo necessário, que é letal em 50% dos organismos)
EAT	Efeito Agudo Tópico
EAR	Efeito Agudo Residual
EFSA	Agência Europeia de Segurança Alimentar Embrapa
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
g	gramas
i.a.	ingrediente ativo
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IMI	Imidacloprido
IRAC	Comitê de Ação de Resistência a Inseticidas
K _{ow}	Coefficiente de partição octanol/água
K _d	Coefficiente de partição solo-água

Koc	Constante de sorção
l	litros
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg	miligramas
mg/kg	miligramas por quilograma
mg/L	miligramas por litro
min	minutos
mL	mililitro
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NNIs	Neonicotinoides
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento
PET	Poli Tereftalato de Etila
$T^{1/2}$	Tempo de meia-vida
UNB	Universidade de Brasília
US-EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
TMX	Tiametoxam

RESUMO GERAL

OLIVEIRA, ALINE ARANTES. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, 04 de fevereiro de 2023. **Toxicidade de inseticida à base de Imidacloprido em abelhas nativas e planárias de água doce.** Orientador: Dr. Althiéris de Souza Saraiva. Coorientadoras: Dra. Marilene Silva Oliveira e Dra. Aline Silvestre Pereira Dornelas.

O aumento da população requer, por consequência, aumento da produção agropecuária, em escala global. Diante disto, o aumento da produtividade agropecuária está, também, associado ao uso intensivo e periódico de agrotóxicos. Entre os agrotóxicos amplamente utilizados no controle de insetos-praga, há os inseticidas neonicotinoides (NNIs) - uma classe de maior expressividade quanto à sua utilização em nível mundial. Entre os NNIs, destaca-se o Imidacloprido (IMI), inseticida de primeira geração, o qual é utilizado numa ampla gama de culturas, apesar de ser restrito ou proibido em muitos países. Dados os potenciais efeitos adversos de IMI sobre organismos não alvo, tornam-se cada vez mais necessários estudos que reportem concentrações seguras dos diferentes compostos sobre organismos terrestres e aquáticos. Neste contexto, o presente estudo visa a avaliar a toxicidade de inseticida à base de IMI sobre organismos não alvo, terrestres (*Tetragonisca weyrauchi*, *Tetragonisca fiebrigi*, *Tetragonisca angustula* e *Tetragona clavipes*), por meio de ensaios ecotoxicológicos de Efeito Agudo Tópico (EAT), Efeito Agudo Residual (EAR), bem como ensaios agudos e crônicos para o organismo aquático *Girardia tigrina*. Dados de concentrações nominais evidenciaram que as quatro espécies de abelhas *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*, apresentaram diferentes níveis de sensibilidade, quando expostas a baixas concentrações de IMI, com maior sensibilidade ao efeito residual. Do mesmo modo, mortalidade de *G. tigrina* não foi observada em concentrações ambientalmente relevantes de IMI. No entanto, o inseticida afetou significativamente a locomoção, regeneração e fecundidade da planária. Com base nos resultados, os dados reportados neste estudo permitem inferir sobre concentrações letais (em 48 h - gênero *Tetragonisca* e 24 h - *T. clavipes* e *G. tigrina*) que afetam 10% e 50% dos organismos-teste (EAT: 39,96 e 610 µg i.a./L, EAR: 4,09 µg e 59,96 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; EAT: 22,20 e 518,09 µg i.a./L, EAR: 3,35 e 98,85 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; EAT: 8,97 e 85,84 µg i.a./L, EAR: 16,05 e 50,30 µg i.a./L para *T. angustula*, EAT: 1,58 e 45,20 µg i.a./L, EAR: 0,18 e 15,26 µg i.a./L para *T. clavipes*; 69,0806 e 113,855 mg i.a./L para *G. tigrina*), ademais da CENO (Concentração de Efeito Não Observado - 100 µg i.a./L) e CEO (Concentração de Efeito Observado - 200 µg i.a./L) determinados para ensaios com *G. tigrina*, que servirão de base para a ecotoxicologia de modo a determinar concentrações seguras e não seguras de IMI sobre não-alvos. Espera-se ainda propor o uso de *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula*, *T. clavipes* e *G. tigrina* como bons bioindicadores de contaminação por IMI, adicionando informações que contribuam com a ecotoxicologia e órgãos de proteção ambiental.

PALAVRAS-CHAVE: Neonicotinoides; organismos terrestres; organismos aquáticos; efeito letal; efeito sub-letal

GENERAL ABSTRACT

OLIVEIRA, ALINE ARANTES. Goiano Federal Institute, Rio Verde Campus, Goiás State (GO), Brazil, February 4, 2023. **Insecticide toxicity based on imidacloprid on native bees and freshwater flatworm.** Advisor: Prof. Dr. Saraiva, Althieris de Souza. Co-advisors: Prof. Dr. Oliveira, Marilene Silva; Prof. Dr. Dornelas, Aline Silvestre Pereira.

The increase in population requires consequently an increase in agricultural production on a global scale. So, the increase in agricultural yield is also associated with the intensive and periodic use of agrochemicals. There are neonicotinoid insecticides (NNIs), a class with higher expressiveness in terms of its use worldwide, among the widely used agrochemicals for controlling pests. Imidacloprid (IMI) is a first-generation insecticide highlighted among NNIs used in a wide range of crops, although it is restricted or prohibited in many countries. Studies are increasingly needed to report safe concentrations of different compounds on terrestrial and aquatic organisms due to the potential adverse effects of IMI on non-target organisms. In this context, this study aims to evaluate the toxicity of an IMI-based insecticide on terrestrial non-target organisms (*Tetragonisca weyrauchi*, *Tetragonisca fiebrigi*, *Tetragonisca angustula*, and *Tetragona clavipes*) through ecotoxicological tests of Acute Topical Effect (ATE), Acute Residual Effect (ARE), as well as acute and chronic tests for the aquatic organism *Girardia tigrina*. Nominal concentration data showed that the four species of bees, *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula*, and *T. clavipes*, exhibited different sensitivity levels when exposed to low IMI concentrations with greater sensitivity to the residual effect. Similarly, *G. tigrina* mortality was not found at environmentally relevant IMI concentrations. However, the insecticide significantly affected the flatworm locomotion, regeneration, and fertility. Considering the results, the data reported in this study allow for inference about lethal concentrations (in 48 h, *Tetragonisca* genus and in 24 h, *T. clavipes* and *G. tigrina* 9 species) that affect 10% and 50% of the test organisms (ATE: 39.96 and 610 µg a.i./L, ARE: 4.09 µg and 59.96 µg a.i./L for *T. weyrauchi*; ATE: 22.20 and 518.09 µg a.i./L, ARE: 3.35 and 98.85 µg a.i./L for *T. fiebrigi*; ATE: 8.97 and 85.84 µg a.i./L, ARE: 16.05 and 50.30 µg a.i./L for *T. angustula*; ATE: 1.58 and 45.20 µg a.i./L, ARE: 0.18 and 15.26 µg a.i./L for *T. clavipes*; 69,0806 and 113,855 mg a.i./L for *G. tigrina*), in addition to the NOEC (No Observed Effect Concentration - 100 µg a.i./L), and LOEC (Lower Observed Effect Concentration - 200 µg i.a./L) defined for tests with *G. tigrina*, which will be applied on ecotoxicology to determine safe and unsafe concentrations of IMI on non-targets. It is also expected to propose the use of *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula*, *T. clavipes*, and *G. tigrina* as good bioindicators of IMI contamination, adding information that contribute to ecotoxicology and environmental protection agencies.

KEYWORDS: Aquatic organisms, lethal effect, neonicotinoids, sub-lethal effect, terrestrial organisms.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os inseticidas são produtos desenvolvidos estrategicamente para o controle de insetos-praga que causam danos econômicos aos cultivos agrícolas ou que afetam os animais (SYNGENTA, 2022a). Por outro lado, o uso intensivo e rotineiro de inseticidas pode ter como consequência a evolução da resistência de insetos-praga e o desenvolvimento de novos produtos (compostos cada vez mais tóxicos para pragas cada vez mais resistentes), o que impacta mundialmente no fornecimento alimentício e de insumos, bem como na economia de diversos países (PE, 2021; IRAC, 2022).

O uso intensivo de pesticidas (CABB, 2021), está, entre outros fatores, relacionado ao constante aumento populacional global (UN, 2022), com maior demanda por alimentos (seguros) e consumidores mais exigentes (CABB, 2021). Por certo, pragas que carecem de controle e normalmente elevado preço de produtos orgânicos. Notavelmente, tornam-se necessários cada vez mais estudos que visem à utilização racional dos inseticidas. Isto dado que, se por um lado há uma demanda do aumento de produtividade; por outro lado, há os impactos associados (SYNGENTA, 2022b).

Entre os pesticidas mundialmente utilizados na produção agropecuária, os neonicotinoides (NNIs) têm representado a classe de inseticidas de maior crescimento mundial (MA et al., 2021). Entre eles, podemos citar o Imidacloprido (IMI) (CALZA et al., 2022), que surgiu em virtude da resistência de pragas e da necessidade de agrotóxicos que fossem menos prejudiciais ao meio ambiente. São quatro as gerações dos inseticidas NNIs, a saber: primeira geração engloba compostos à base de IMI, Acetamiprido (ACE), Nitenpyram (NTP) e Tiacloprido (TIA); segunda geração engloba compostos à base de Clotianidina (CLO) e Tiametoxam (TMX); a terceira geração, compostos à base de Dinotefuran; e a quarta geração de NNIs, compostos à base de Cycloxaprid, Guadipyr, Imidaclothiaz e Paichongding (THOMPSON et al., 2020).

Neste cenário, os inseticidas à base de IMI, TMX, CLO são atualmente os inseticidas NNIs mais comercializados (BORSUAH et al., 2020), sendo IMI o mais utilizado (MORRISSEY et al., 2015; BASS et al., 2015; MA et al., 2021). Inseticidas à base de IMI têm sido reportados com potencial para impactar organismos não alvo, a exemplo de invertebrados, tanto terrestres (WHITEHORN et al., 2012; SANCHEZ-BAYO; GOKA, 2014; PAGANO; STARA; ALIKO, 2020; CARNEIRO et al., 2022), quanto aquáticos (STOUGHTON et al., 2008; ROESSINK; et al., 2013; GUO et al., 2020; SCHEPKER et al., 2020). Como exemplo dos impactos de inseticidas NNIs sobre ecossistemas terrestres, a

literatura científica tem reportado e chamado atenção para o impacto sobre as abelhas polinizadoras (TACKENBERG et al., 2020; WILLIS CHAN; RAINE, 2021; MEIKLE et al., 2021). Estes insetos polinizadores têm sofrido forte declínio em muitos países na última década (AXEL; DEVILLERS., 2019; POTTS et al., 2010), inclusive no Brasil (COSTA; BARCHUK; DO VALLE TEIXEIRA, 2020; IBAMA, 2022). A toxicidade para esses organismos direcionou no Brasil três inseticidas NNIs – IMI, TMX e CLO – para reavaliação toxicológica no âmbito da periculosidade ambiental (IBAMA, 2019).

No ambiente aquático, inseticidas NNIs, até mesmo em baixas concentrações, podem impactar significativamente insetos aquáticos não alvo, como, por exemplo, os Quironomídeos (SARAIVA et al., 2017; KOBASHI et al., 2017; CAVALLARO et al., 2019; BEENTJES et al., 2021) e outros organismos como *Litopenaeus vannamei* (causando estresse oxidativo, reduzindo o desempenho do crescimento, imunidade e danos nos tecidos) (FU et al., 2022), *Daphnia magna* (elevada taxa de mortalidade) (STINSON et al., 2022), *Rana pipiens* (alterações comportamentais e bioacumulação) (CAMPBELL et al., 2021) e *Danio rerio* (lesões oxidativas) (DENG et al., 2022).

Para além dos efeitos adversos sobre organismos não alvo terrestres e aquáticos, os NNIs podem, inclusive, apresentar efeitos prejudiciais à saúde humana, o que carece de atenção científica (NEVES et al., 2020; PAGANO; STARA; ALIKO, 2020; BONMATIN et al., 2021). Segundo a Embrapa (2022), o entendimento sobre as características dos agrotóxicos é importante para o monitoramento dos impactos ambientais. Neste contexto, a Tabela 1 resume importantes informações do IMI.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas e concentrações ambientais do Imidacloprido.

Pesticida	IMI
Solubilidade em água mg/L	610 ^a
K_{ow}	3,72 ^a
Log K_{ow}	0,57 ^a
Potencial de Lixiviação	3,69 ^a
T^{1/2}_{campo} (dias)	174 ^a
T^{1/2}_{água e sedimento} (dias)	129 ^a
K_d	0,956 a 4,18 ^b
K_{oc}	132 a 310 ^b
Concentração ambientalmente relevante no solo (superficial) µg/kg	903,31 ^c
Concentração ambientalmente relevante na água (superficial) µg/L	11,9 ^d – 320 ^f

^aValores obtidos a partir de Lewis et al. (2016) – Pesticide Properties Database (PPDB); ^b Ibama (2019); ^c Bonmatin et al. (2021); ^d Pietrzak et al. (2019); ^e Morrissey et al. (2015) e Ma et al. (2021).

A abelha nativa jataí, gênero *Tetragonisca*, compreende três espécies: *Tetragonisca angustula* [Latreille (Latreille, 1811) (Hymenoptera: Apidae)], *Tetragonisca fiebrigi* [Schwarz (Schwarz, 1938) (Hymenoptera: Apidae)] e *Tetragonisca weyrauchi* [Schwarz (Schwarz, 1943) (Hymenoptera: Apidae)] (BRASIL, 2022). Entre as abelhas nativas mais importantes da América Latina, há ainda a abelha Borá, do gênero *Tetragona* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), espécie *Tetragona clavipes* (RS DUARTE; SOARES, 2016). Essas abelhas (*T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*) apresentam potencial de bioindicação para efeitos de inseticidas NNIs em ecossistema, em razão da sua importância para a manutenção dos agroecossistemas, efeito polinizador em ampla gama de culturas, produção de alimentos e outras matérias-primas, com manipulação meliponária simples (SLAA et al., 2006; VOSSLER et al., 2018; JACOB et al., 2019). Para além disso, são organismos que apresentam sensibilidade a inseticidas (comportamento e sobrevivência) (JACOB et al., 2019; PIOVESAN et al., 2020).

Adicionalmente, nos ecossistemas de água doce tropical, a planária de água doce *Girardia tigrina* [Girard (Girard, 1850) (Paludicola: Dugesiiidae)] tem sido reportada como boa indicadora para o biomonitoramento do impacto de pesticidas em ecossistemas de água doce (SARAIVA et al., 2018; LÓPEZ et al., 2019; SARAIVA et al., 2020; DORNELAS et al., 2021; PESTANA; OFOEGBU, 2021) através de ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos em laboratório. De acordo com relatos científicos, aspectos de sobrevivência, alimentação, regeneração e reprodução das planárias são pontos relevantes para qualificá-las como bons indicadores biológicos da presença de contaminantes (SARAIVA et al., 2018; VILA-FARRÉ; RINK, 2018; WU; LI, 2018; LÓPEZ et al., 2019a; OFOEGBU et al., 2019; DORNELAS et al., 2021; OFOEGBU, 2021).

Diante do exposto e considerando o cenário produtivo do Sudoeste Goiano, com potenciais efeitos deletérios de inseticidas NNIs sobre ecossistemas adjacentes aos cultivos agrícolas e organismos não alvo, o presente estudo objetivou avaliar a toxicidade de inseticidas NNIs à base de IMI sobre organismos terrestres não alvo (*T. weyrauch*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*) e aquáticos (*G. tigrina*), com a utilização de ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos (para organismos aquáticos, apenas).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Uso de Agrotóxicos na Agricultura em Nível Mundial com Ênfase no Brasil

Com o aumento da população mundial (UN, 2022) e a conseqüente demanda por alimentos, a agricultura tem se tornado cada vez mais importante para garantir a segurança alimentar (BRASIL; MAPA; EMBRAPA, 2019). O Brasil, como um dos principais produtores agrícolas do mundo, tem desempenhado papel fundamental neste cenário, com recordes de exportações e crescimento constante na produção agropecuária (CNA, 2022). No entanto, a produção em larga escala vem acompanhada do uso intensivo de agrotóxicos (CARNEIRO et al., 2018; ALMEIDA et al., 2017; BOTELHO et al., 2020), os quais podem trazer impactos negativos para o meio ambiente e para a saúde humana.

A utilização destes compostos se dá devido à sua atuação como medida preventiva em colheitas no intuito de controlar insetos-praga (EFSA, 2022a), que podem causar prejuízos devastadores para a cadeia produtiva e a economia de um país (CARTAXO et al., 2019). A dependência de agrotóxicos na agricultura em muitos países, apesar de seu uso efetivo, por permitir a intensificação agrícola e ganhos na produtividade após a Segunda Guerra Mundial, aponta para a responsabilidade ambiental (WORLD BANK, 2021). Ainda que haja necessidade de produção/consumo, diversos estudos reportam riscos associados aos agrotóxicos (NEVES et al., 2020).

No Brasil, a palavra agrotóxicos é definida nos moldes da Lei Federal nº 7.802, de 1989 como sendo produtos físicos, químicos, biológicos, consumidos na agricultura, podendo ser substâncias e produtos, dispostos como desfolhantes, dessecantes, estimulantes e inibidores de crescimento. Esta Lei, no artigo 1º, dispõe sobre “A pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens [...]”. Ainda, para atuação conjunta visando à transparência e à orientação para os registros nacionais, o MAPA fornece importantes informações para a cadeia produtiva brasileira, sobre defensivos/produtos afins, pragas, ingredientes e relatórios de acordo com as bulas aprovadas. Nos Estados Unidos, a palavra é tida como substâncias ou misturas, com ingredientes ativos ou não, visando a erradicar, precaver, ou afastar insetos ou pragas (US-EPA, 2022).

Para o IRAC (2022), a resistência das pragas aos mais diversos inseticidas é um desafio global. As conseqüências dessa resistência incluem a aplicação de produtos com

maior frequência, o uso de doses acima das recomendadas no rótulo, a utilização indevida da mistura de produtos e troca de produtos (geralmente por um produto mais caro e/ou mais tóxico), na intenção de alcançar um controle satisfatório de uma determinada praga.

2.2 Uso de Inseticidas Neonicotinoides na Agricultura

Os NNIs são comumente utilizados no tratamento foliar e de sementes (NAUEN; KOOB; ELBERT, 1998, JESCHKE et al., 2011), visando ao aumento da produtividade de grãos (WANG et al., 2018). Atualmente, são considerados a classe mais importante a nível global (MA et al., 2021) e a mais eficaz em comparação com outros agrotóxicos presentes à época de sua origem (JESCHKE et al., 2011), estando presentes no mercado global desde 1990, tendo sido desenvolvido, entre outros objetivos, para minimizar os impactos aos ecossistemas (ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; MORRISSEY et al., 2015).

Inseticidas da classe dos NNIs são aplicados em ampla variedade de culturas para controle de uma extensa gama de insetos-praga (NAUEN; KOOB; ELBERT, 1998; JESCHKE et al., 2011). Como exemplo dos NNIs existentes, tem-se o IMI, pertencente à primeira geração de NNIs, de relevante impacto mercadológico, mas também ambiental (JESCHKE; NAUEN, 2008; MORRISSEY et al., 2015; BASS et al., 2015; MA et al., 2021; CHC, 2022; UE, 2022; US-EPA, 2022).

No geral, os NNIs são substâncias neurotóxicas (CASIDA; DURKIN, 2013; CASTILHOS et al., 2019), que agem no sistema nervoso central do inseto (ELBERT et al., 2008; RAYMANN et al., 2018), mimetizam a ação de Acetilcolina (ACh) e não são degradados pela enzima Acetilcolinesterase (AChE), ao passo que bloqueiam os receptores nicotínicos, causando hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, provocando constantes estímulos (contrações musculares), com paralisia e morte do inseto (MATSUDA et al., 2001; TOMIZAWA; CASIDA, 2005; ELBERT et al., 2008; UPL, 2017; MA et al., 2021).

Quando os NNIs são absorvidos pelo cultivo, eles são transportados por toda a planta - folhas, flores, sementes, caules e galhos (ELBERT et al., 2008; UE, 2022). Na agricultura, estes compostos são usualmente utilizados no tratamento de sementes, tratamento foliar, com vistas ao controle de pragas sugadoras e perfuradoras, incluindo outros organismos presentes no solo, como larvas, vermes e besouros (US-EPA, 2022), até o armazenamento de grãos, sendo ainda aplicados em animais de interesse zootécnico (para o controle dos insetos que os acometem).

Pela sua representatividade no cenário do agronegócio, o Sudoeste Goiano destaca-se na produção de grãos e de cana-de-açúcar, que, associado aos recordes produtivos, o uso de inseticidas é essencial para adequadas produtividades. Por outro lado, dados científicos que reportam os potenciais impactos ambientais destes compostos químicos sobre organismos não alvo ainda são escassos na literatura. Adicionalmente, um levantamento prévio feito no Sudoeste Goiano (Apêndices A e B), permitiu identificar que os inseticidas da classe dos NNIs são amplamente utilizados para controle de pragas em monoculturas exploradas na Região Sudoeste do Estado de Goiás, com destaque para inseticidas à base de IMI.

Considerando o uso de inseticidas à base de IMI, na Região Sudoeste do Estado de Goiás, o composto Imidagold 700 WG foi o objeto de estudo desta pesquisa, dada sua representatividade no cenário Regional, Estadual e Nacional, no âmbito da produção agrícola. Imidagold 700 WG é indicado para as culturas de algodão, batata, cana-de-açúcar, cebola, citros, crisântemo, feijão, fumo, melão e tomate para combater as seguintes pragas: pão-de-galinha (*Euethiola humilis*), tripes (*Frankliniella schultzei*), tripes (*Thrips palmi*), pulgão verde (*Myzus persicae*), cupim (*Heterotermes tenuis*), tripes (*Thrips tabaci*), minadora-das-flores (*Phyllocnistis citrella*), pulgão preto (*Toxoptera citricida*), Cigarrinha da cvc (*Oncometopia facialis*), cochonilha orthezia (*Orthezia praelonga*), cochonilha pardinha (*Selenaspidus articulatus*), mosca branca (*Bermisia tabaci*), mosca branca (*Bermisia tabaci* raça B), vaquinha verde amarela (*Diabrotica speciosa*), cigarrinha verde (*Empoasca kraemerii*), broca do fumo (*Faustinus cubae*), pulgão das inflorescências (*Aphis gossypii*) (UPL, 2022).

2.3 Impacto de Inseticidas à Base de Imidacloprido no Ambiente Terrestre e Aquático

Ao considerar o impacto dos pesticidas no ecossistema terrestre, as abelhas têm sido alvo de intensa preocupação em todo o mundo. Em levantamento feito pela Agriculture Organization of the United Nations, 90% dos vegetais responsáveis pelo fornecimento alimentar mundial, quantificados em 100 espécies, carecem da polinização de abelhas em 71 dessas espécies e culturas (EFSA, 2022). Pesquisas recentes mostram que a utilização de IMI tem reduzido significativamente colônias de abelhas em todo o mundo (RAYMANN et al., 2018; MA et al., 2021). Nos últimos 10 a 15 anos, esses importantes organismos polinizadores, imprescindíveis para a manutenção do ecossistema, com grande valor ecológico e econômico, têm apresentado perdas e enfraquecimento (EFSA, 2022b). Tal

declínio pode estar intimamente relacionado com a utilização de inseticidas ligados à produção (DECOURTYE; DEVILLERS, 2010). Segundo o Ibama (2022), o efeito produzido por três inseticidas NNIs (IMI, TMX e CLO) em abelhas polinizadoras no Brasil, para além do que tem sido reportado na literatura científica internacional, culminou em reavaliação toxicológica.

No ambiente aquático, os inseticidas são reportados por impactar organismos importantes para a manutenção do bioma. Em pesquisa conduzida com três grupos taxonômicos diferentes, que incluem Insecta, Filo Mollusca e Filo Annelida, foram comprovados efeitos prejudiciais (BORSUAH et al., 2020). Adicionalmente, a aplicação intensa e periódica levou o IMI à lista de maior reincidência em águas superficiais em todo o mundo (MANDAL; SINGH; PURAKAYASTHA, 2017; MA et al., 2021). Recomendações previamente aprovadas fizeram com que a União Europeia adotasse e publicasse recomendações de substâncias a serem monitoradas em águas superficiais, entre elas os NNIs (IMI, TIA, TMX, CLO e ACE) (EC, 2022). Por conta de propriedades físico-químicas como solubilidade e persistência, além de concentrações ambientais com elevada toxicidade, o IMI é considerado um contaminante emergente pela União Europeia (CIRCACBC, 2018; MA et al., 2021).

A grande utilização desses produtos químicos tem como consequência os mais diversos efeitos ao ecossistema, sendo contaminante do solo pela formação de resíduos e de água por lixiviação para corpos d'água (DORNELAS et al., 2021). A lixiviação ou escoamento de pesticidas merece destaque no que concerne à contaminação ambiental, pois, no primeiro caso (lixiviação), o impacto ocorre pelo movimento desses compostos ao longo do perfil do solo, com substâncias que tendem a contaminar águas subterrâneas, que alimentam aquíferos; no segundo caso (escoamento), o dano ocorre pela contaminação por movimentação da água na superfície, o que favorece a contaminação de águas superficiais (BELCHIOR et al., 2017; EMBRAPA, 2022).

Para avaliação do índice de contaminação de águas subterrâneas, tem sido utilizado o índice de GUS (Groundwater Ubiquity Score), sendo o IMI um possível agente causador de contaminação das águas subterrâneas (ISMAEL; ROCHA, 2019). Considerando o índice supramencionado, quanto maior o valor de GUS, ou seja, elevada meia vida do agrotóxico e reduzida absorção molecular de matéria orgânica no solo, maior será a contaminação das águas subterrâneas em decorrência do potencial de lixiviação no perfil do solo (RUY; REIS, 2012; ISMAEL; ROCHA, 2019).

2.4 Bioindicadores de Contaminação Ambiental

Por definição, bioindicadores normalmente são organismos ou processos biológicos usados como medida do impacto de contaminantes ambientais (indicados pela análise em organismos ou ambientes), também conhecidos como biomonitoramento (AL-KHAZRAJI; THAKIR; EL-HADEETI, 2020). Na escolha do organismo teste, devem ser consideradas suas características fisiológicas e comportamentais (para determinado experimento), relevando a sensibilidade do organismo (KUMAR; SOLANKI; KUMAR, 2012; AL-KHAZRAJI; THAKIR; EL-HADEETI, 2020). Na ecotoxicologia, o homem faz parte de um ecossistema, coexistindo com outros seres, e nesse meio, ao examinar o impacto químico, seus efeitos e a responsabilidade do homem tornam-se importantes estudos com utilização de técnicas ecotoxicológicas (TRUHAUT, 1977; VASSEUR; MASFARAUD; BLAISE, 2021). Nesse sentido, ante a utilização de bioindicadores de contaminação ambiental, no presente caso, as abelhas nativas (*T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*) e a planária de água doce tropical (*G. tigrina*), será avaliada a toxicidade aguda (*T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula*, *T. clavipes* e *G. tigrina*) e crônica (*G. tigrina*) de inseticida à base de IMI.

Neste estudo, a abelha jataí, invertebrado terrestre, tem potencial para se tornar bioindicador de contaminação por inseticidas NNIs, em razão da sua extrema importância global (EFSA, 2022b) e da sua abundância em Regiões Neotropicais (MALAGODI-BRAGA; PEIXOTO KLEINERT, 2004), como as áreas do Cerrado. *T. clavipes* é uma espécie de abelha sem ferrão, nativa da América do Sul, família Meliponina, considerada a mais importante das Américas Tropicais. *T. angustula*, também pertencente à tribo Meliponini (JACOB et al., 2019), é polinizadora de uma grande variedade de espécies vegetais (GARIBALDI et al., 2014), apresenta adaptabilidade a diferentes meios, produz alimentos e outros derivados, além de ser de fácil manipulação (MALAGODI-BRAGA; PEIXOTO KLEINERT, 2004; SLAA et al., 2006; VOSSLER et al., 2018; JACOB et al., 2019).

As planárias ganharam notoriedade na ecotoxicologia, sendo reconhecidas como bons bioindicadores. As planárias têm extraordinária capacidade de regeneração (NEWMARK; ALVARADO, 2002; REDDIEN; SÁNCHEZ ALVARADO, 2004; PESTANA; OFOEGBU, 2021). São animais invertebrados, predadores, do filo dos Platelminhos, que se reproduz de forma sexuada e assexuada, importante no ecossistema, com capacidade de adaptar constantemente seu sistema nervoso, com base na alimentação (POIRIER et al., 2019). Para além disso, planárias são organismos de fácil manipulação e baixo custo para pesquisas (BUTTARELLI; PELLICANO; PONTIERI, 2008; RODRIGUES

et al., 2016; OFOEGBU et al., 2016; SARAIVA et al., 2018; POIRIER et al., 2019; LÓPEZ et al., 2019; OFOEGBU et al., 2019; SARAIVA et al., 2020).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a toxicidade de inseticida à base de IMI sobre organismos não alvo terrestres (*T. weyrauchi*; *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*) e aquáticos (*G. tigrina*), mediante abordagem ecotoxicológica.

3.2 Específicos

- Avaliar a toxicidade aguda de inseticida à base de IMI em *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*, através de efeito tópico, visando à determinação da CL₅₀;
- Avaliar a toxicidade aguda de inseticida à base de IMI em *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*, através de efeito residual (susceptibilidade oral), visando à determinação da CL₅₀;
- Avaliar a toxicidade aguda de inseticida à base de IMI em *G. tigrina*, visando à determinação da CL₅₀;
- Avaliar a toxicidade crônica (efeito subletal) de inseticida à base de IMI sobre a locomoção, regeneração, reprodução (fecundidade, apenas) de *G. tigrina*, visando à determinação da Concentração de Efeito Não Observado e Concentração de Efeito Observado.

4. ARTIGO DE REVISÃO

CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR INSETICIDAS NEONICOTINOIDES: A ECOTOXICOLOGIA COMO FERRAMENTA DE BIOMONITORAMENTO

RESUMO

Nas últimas décadas, os inseticidas da classe dos neonicotinoides (NNIs) têm sido mundialmente utilizados para controlar insetos-praga nas lavouras. No entanto, o uso de ingredientes ativos pertencentes à classe dos NNIs tem sido relatado como potenciais causadores de impactos sobre a biodiversidade, como ecossistemas terrestres e aquáticos, em áreas adjacentes a cultivos agrícolas. Fato é que muitos países, inclusive desenvolvidos, acabaram proibindo ou restringindo o uso de alguns inseticidas NNIs (Bélgica, Croácia, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Lituânia, Polónia, Roménia, Eslováquia, Espanha e Canadá). No Brasil, três princípios ativos desta classe de inseticidas estão em reavaliação toxicológica quanto aos riscos ambientais, incluindo Tiametoxam (TMX), Imidacloprido (IMI) e Clotianidina (CLO). Os Estados Unidos buscam “mitigações”, ou seja, cumprir as obrigações impostas na Lei de Espécies Ameaçadas (ESA) da Agência de Proteção Ambiental (EPA), sem sobrecarregar indevidamente a agricultura e outros usuários de pesticidas. A Rússia não restringe, porém faz recomendações para sua utilização. Danos a organismos não alvo não passam despercebidos e são questionados por estudos que evidenciam efeitos negativos. Há de se considerar que os polinizadores denotam relativa sensibilidade aos NNIs, ainda que em baixas concentrações, com efeitos letais e subletais. Notavelmente, apesar de os efeitos indiretos raramente serem observados em organismos específicos como minhocas, planárias e crustáceos, são relatadas comunicações de neurotoxicidade e distúrbios comportamentais em organismos não alvo. Diante do exposto, o objetivo desta revisão de literatura foi abordar os potenciais impactos dos inseticidas NNIs em um contexto de compilação de dados e discussão das informações abordadas em publicação científica que vise contribuir para com órgãos de proteção ambiental e outros estudos científicos ou afins.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiversidade; pesticidas; impactos potenciais; neonicotinoides

ABSTRACT

In last decades, neonicotinoids (NNIs) class insecticides have been globally used to control insect pests in crops. However, the use of NNIs active ingredients has been reported as potential causes of impacts on biodiversity, including terrestrial and aquatic ecosystems in areas adjacent to agricultural crops. Many countries, including developed ones as Belgium, Croatia, Denmark, Finland, France, Germany, Lithuania, Poland, Romania, Slovakia, Spain, and Canada, have ended up banning or restricting the use of some NNIs insecticides. In Brazil, three active principles of this insecticide class, including Thiamethoxam (TMX), Imidacloprid (IMI), and Clothianidin (CLO), are undergoing toxicological reassessment regarding environmental risks. The United States is looking for "mitigations", that is, to fulfill the mandatory imposed by the Endangered Species Act (ESA) of the Environmental Protection Agency (EPA) without improperly overloading farming and other pesticide users. Russia does not restrict but makes recommendations for its use. Damage to non-target organisms is not overlooked and is discussed by studies that point negative effects. It must be considered that pollinators show relative sensitivity to NNIs even at low concentrations with lethal and sublethal effects. Notably, communications of neurotoxicity and behavioral disorders on non-target organisms are reported, although indirect effects are rarely found in specific organisms such as earthworms, flatworms, and crustaceans. Considering the above, this literature review aimed to address the potential impacts of NNIs insecticides in a context of data compilation and discuss the information found in scientific publications, aiming to contribute to environmental protection agencies and other scientific or related studies.

KEYWORDS: Biodiversity, neonicotinoid, agrochemicals, potential impacts.

4.1 Uso dos Inseticidas Neonicotinoides na Produção Agropecuária

Pode-se afirmar que a pesquisa científica tem focado no uso dos inseticidas que impactem menos a biodiversidade, ao passo que no cenário atual os neonicotinoides (NNIs) têm sido considerados uma das classes de inseticidas mais utilizadas para o controle de insetos-praga, com relevante destaque a nível mundial. Essa classe de inseticida foi desenvolvida tendo como base a molécula de nicotina sintética, que surgiu em meados de 1990 (MORRISSEY et al., 2015). Esses compostos foram desenvolvidos por químicos da Shell Chemical Company, contendo ingredientes ativos heterocíclicos de nitrometilenos.

Com relação ao modo de ação, os NNIs mimetizam a ação da Acetilcolina (Ach), porém não são degradados pela enzima Acetilcolinesterase (AchE), causando bloqueio do neurônio receptor, levando o inseto a fortes contrações musculares com consequente paralisia e morte (NAUEN et al., 2003; HS; SN, 2018; HLADIK; MAIN; GOULSON, 2018; TAILLEBOIS et al., 2018). Os NNIs são amplamente utilizados para o controle e prevenção de insetos indesejáveis (no local e cultivo), com eficácia frente a diversos insetos-praga, como cigarrinha do algodão (*Cicadellidae*), cujo principal método de controle é feito pelo inseticida neonicotinoide IMI (SAEED; RAZAQ; HARDY, 2016). Doenças de citros ocasionadas pelas bactérias *huanglonbing*, transmitidas pelo inseto-praga psílídeo *Diaphorina citri*, são usualmente controladas por meio do TMX (ASSALIN et al., 2017). *Bemisia tabaci*, popularmente chamada de mosca-branca, uma das principais pragas agrícolas, por transmitir toxinas que provocam o amadurecimento irregular da cultura (LOURENCAO; NAGAI, 1994; SILVA et al., 2009), é controlada por inseticidas NNIs, como o IMI (CAHILL et al., 1996).

Essa classe de inseticidas também é utilizada para fins zootécnicos (criação de animais com fins econômicos), bem como na medicina veterinária (animais silvestres e domesticados pelo homem), visando ao controle de carrapato, pulgas e vermes (PISA et al., 2014). Neste sentido, o objetivo desta revisão de literatura foi abordar os potenciais impactos dos inseticidas NNIs em um contexto de compilação de dados e de discussão das informações em publicação científica que visem a contribuir com órgãos de proteção ambiental e estudos científicos ou afins.

4.2 História e Legislação dos Neonicotinoides no Brasil e no Mundo

No Brasil, a obrigatoriedade do uso de agrotóxicos foi introduzida na década de 1960 para aumentar a oferta de alimentos e matérias-primas (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003). Em 1965, foi instituído o Sistema Nacional de Crédito Rural (SNRC), introduzindo pacotes

tecnológicos para insumos químicos (BB, 2004). Em 1975 foi instituído o II Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), Programa Nacional de Defesa Agropecuária, para tornar obrigatório o uso de agrotóxicos e fábricas para a produção de insumos químicos na agropecuária brasileira. De fato, somente em 1989 foi implantada Legislação Federal referente ao uso adequado dos agrotóxicos, Lei 7.802, que estabelece medidas/definições no sentido de os agrotóxicos terem a finalidade de alterar a composição do meio ambiente (BRASIL, 1989; PELAEZ; TERRA; SILVA, 2010).

A legislação que regula o uso de agrotóxicos no Brasil difere muito das políticas públicas adotadas por países desenvolvidos, como, por exemplo, a União Europeia. Estudos apontam que os valores de resíduos de agrotóxicos autorizados no Brasil são muito superiores aos limites estabelecidos pela União Europeia (EM), principalmente ao considerar efeitos sinérgicos e antagônicos (GONÇALVES, 2016).

Em janeiro de 2016, nos Estados Unidos o inseticida neonicotinoide IMI entrou em reavaliação toxicológica pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA), por apresentar riscos potenciais aos polinizadores (US-EPA, 2022), com previsão de findar a reavaliação em 2024 (US-EPA, 2022). No Canadá, este mesmo ingrediente ativo está em reavaliação toxicológica e com restrições de uso pela Agência Reguladora de Manejo de Pragas do Ministério da Saúde do Canadá (Health Canada's Pest Management Regulatory Agency – PMRA) (PMRA, 2022).

Em razão dos riscos associados, os pesticidas da classe dos NNIs foram restritos ou proibidos em vários países nos últimos anos. No Brasil, três inseticidas NNIs estão em reavaliação toxicológica pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (TMX, CLO e IMI), justamente pelo fato de pesquisas científicas evidenciarem o impacto destes compostos sobre abelhas. Nos Estados Unidos, a US-EPA finalizou duas etapas do processo de reavaliação ambiental destes compostos e constatou que parte de um grupo dos NNIs, que inclui os mesmos ingredientes ativos em reavaliação no Brasil (TMX, CLO e IMI), provavelmente afete negativamente habitats críticos (EPA, 2022). Por conta dessas descobertas, a US-EPA (2022) deu início a uma nova consulta formal conjunta com outros órgãos de proteção ambiental, que prevê propor ações em 2023 para redução da aplicabilidade dos NNIs para espécies em risco (tendo como base previsão de avaliação biológica – projeto em andamento).

Em 2013, esses três ingredientes (TMX, CLO e IMI) foram proibidos pela Comissão Europeia (2022). E por não haver medidas efetivas de controle, a utilização de tais produtos está condicionada a uma autorização de emergência pelos Estados-Membros (Bélgica,

Croácia, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Lituânia, Polónia, Roménia, Eslováquia e Espanha), bem como a uma restrição nos cultivos de campos abertos (EM, 2022). Na Rússia, embora não haja restrições, são desenvolvidos estudos e recomendada a aplicação de NNIs por gotejamento (PESTICIDY-RU, 2022).

4.3 Efeitos de Indiretos de Neonicotinoides Sobre a Saúde Humana

Após aplicação nas lavouras, os inseticidas NNIs são absorvidos pelos tecidos da planta e podem sistematicamente se deslocar ao longo da cultura (MA et al., 2021), ocasionando contaminação de organismos não alvo, principalmente em áreas adjacentes aos cultivos agrícolas – com especial atenção para as áreas de monocultura, levando sua contaminação para níveis tróficos mais elevados (WOOD; GOULSON, 2017). Tais compostos podem resultar na toxicidade de curto e longo prazo, de modo a afetar drasticamente a organização biológica, modificando a forma e dinâmica da cadeia alimentar (SHEN et al., 2022).

Há relatos de danos indiretos em diversas matrizes ecológicas (HERBERT et al., 2021) e, conseqüentemente, no corpo humano, com ocorrências adversas; podendo causar problemas respiratórios e sintomas de neurotoxicidade (LI; ROBINSON; KANNAN, 2022). Os inseticidas, ao entrar no corpo humano, se metabolizam mediante o citocromo P450, levando a uma biotransformação que produz metabolitos de meia vida variáveis (LI; LIN; LIU, 2022). Embora os NNIs sejam amplamente detectados no ecossistema e no corpo humano, em concentrações que variam de centenas de níveis nanomolares a micromolares, há ausência de estudos sobre toxicologia e mecanismos à saúde humana (LI et al., 2022).

Grande parte dos NNIs, após ingeridos, são secretados pela urina, porém a pequena porcentagem ainda presente no organismo, especialmente os metabolitos, pode exercer efeitos adversos (ZHANG; LU, 2022). Pesquisa conduzida nas Filipinas mostrou resíduos de NNIs em 81% das amostras humanas, coletadas para teste (BONMATIN et al., 2020). Outros estudos demonstram a evolução de câncer de mama em níveis de exposição (LI et al., 2022).

Há ainda risco associado aos índices de homeostase da insulina e de glicose (VUONG; CAI ZHANG; CHEN, 2022), ocorrência em plasma seminal, com redução na qualidade reprodutiva (WANG et al., 2022), efeitos que variam de agudos a crônicos, entre eles, cardiovasculares, neurológicos, genéticos e defeitos congênitos (THOMPSON et al., 2020).

4.4 O Impacto dos Inseticidas Neonicotinoides no Meio Ambiente

No âmbito dos inseticidas utilizados para o controle de insetos-praga na produção agropecuária, os NNIs representam uma das classes de inseticidas mais utilizadas nesta última década (MORRISSEY et al., 2015; HLADIK; MAIN; GOULSON, 2018). De fato, o uso indiscriminado destes compostos pode causar efeitos deletérios ao meio ambiente, como, por exemplo, a contaminação dos corpos hídricos decorrente de fatores físico-químicos do composto (solubilidade, movimentação, aderência), quando o inseticida entra em contato com o meio aquático através do escoamento superficial, precipitação pluviométrica e deposição atmosférica, após a pulverização de inseticida sobre a lavoura (GUPTA et al., 2002; HAYASAKA et al., 2012; RABY et al., 2018; SGOLASTRA et al., 2020; SOUZA et al., 2020).

Em nível mundial, os inseticidas NNIs vêm contribuindo para o desaparecimento de colônias de abelhas, grandes polinizadoras de plantas agrícolas. As abelhas têm grande importância para a agricultura e para a produção de alimentos, visto serem essenciais na polinização das culturas. E, nesse cenário produtivo, as abelhas nativas têm conquistado seu espaço pela facilidade de manuseio e manipulação, contribuindo para o aumento da produtividade e para a melhoria da qualidade dos frutos (GALLAI et al., 2009; GIANNINI et al., 2015; PIRES et al., 2016). As abelhas estão também diretamente ligadas ao sistema econômico, em decorrência da produção de substâncias como a própolis, mel, cera e cerume – tanto para consumo, quanto para a produção de insumos, alimentos e medicamentos.

Em razão da perda de colônias, alguns países restringiram ou proibiram o uso de agrotóxicos da classe NNIs (GONÇALVES, 2016). O declínio das populações de abelhas também pode estar associado à perda de habitat, levando à redução dos recursos alimentares por conta da expansão dos sistemas agrícolas, desenvolvimento urbano e remoção do ambiente natural pelas atividades humanas (HAGEN et al., 2012).

Foi relatado que o uso indiscriminado de pesticidas leva a um declínio nas populações de abelhas, chamado de DCC (Declínio do Colapso de Colônias) ou CCD (Colony Collapse Disorder) (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). A contaminação desses invertebrados geralmente ocorre em áreas agrícolas (IMPERATRIZ-FONSECA; SEGUI; FRANCOY, 2012). Do ponto de vista econômico e ambiental, o impacto dos agrotóxicos NNIs é preocupante, motivo de a comunidade científica estar mais atenta e a pesquisa ser cada vez mais necessária.

4.5 A Ecotoxicologia como Ferramenta de Biomonitoramento de Contaminação por Inseticidas Neonicotinoides

A ecotoxicologia é a ciência responsável por estudar os efeitos da utilização das substâncias químicas naturais ou artificiais no organismo dos seres vivos e no meio ambiente, possibilitando medir o grau de toxicidade sobre o organismo estudado (TRUHAUT, 1977; MAGALHÃES; FILHO, 2008). Adicionalmente, entende-se como toxicidade o efeito negativo de algumas substâncias ou produtos em relação ao organismo (BRASIL; IBAMA, 2019b).

Em estudos de toxicidade aguda, a CL_{50} é observada onde a concentração de um contaminante responsável pela morte de 50% dos organismos avaliados é determinada por meios estatísticos (SARAIVA et al., 2017; RABY et al., 2018; BRASIL; IBAMA, 2019; SILVA et al., 2021; STINSON et al., 2022). Ensaio de toxicidade crônica avaliam concentrações sub-letais de xenobióticos que possam afetar parâmetros comportamentais (por exemplo, locomoção e alimentação) (SILVA et al., 2021); fisiológicos (por exemplo, crescimento, desenvolvimento e reprodução) (OFOEGBU et al., 2016; DORNELAS et al., 2021; LÓPEZ et al., 2021; DORNELAS et al., 2022; REIS et al., 2022); e bioquímicos (por exemplo, o sistema nervoso, mecanismos de defesas, através de atividades enzimáticas, metabolismo e reservas energéticas) (SARAIVA et al., 2017).

Assim, para estudos de toxicidade crônica, a faixa de estudo geralmente é determinada pelas Concentrações de Efeito Não Observado (CENO) (MAGALHÃES; FILHO, 2008) e Concentração de Efeito Observado (CEO) (KOBASHI et al., 2017; IBAMA, 2019b; DORNELAS et al., 2021). Especialmente para inseticidas da classe dos NNIs, estudos ecotoxicológicos são fundamentais para o biomonitoramento de ecossistemas terrestres e aquáticos por meio de testes de toxicidade com organismos que habitam os respectivos ecossistemas (PERRY et al., 2021). Na última década, publicações científicas em todo o mundo usaram a ecotoxicologia como a principal ferramenta de biomonitoramento ambiental para avaliar, prever ou detectar efeitos de xenobióticos (Apêndice F).

A fauna edáfica (organismos que habitam o solo) (NIVA; BROWN, 2019), polinizadores (abelhas), bem como ecossistemas de água doce (algas, insetos, vermes, crustáceos, anfíbios, peixes, entre outros), têm sido amplamente estudados para avaliação dos potenciais riscos associados à toxicidade de inseticidas NNIs, e os impactos não somente sobre o organismo, mas também em nível populacional e, conseqüentemente, sobre comunidades e ecossistemas. Deste modo, o volume de dados produzidos pela ciência da

ecotoxicologia no âmbito dos efeitos deletérios dos inseticidas NNIs tem contribuído sobremaneira com agências de proteção ambiental em todo o mundo, culminando na reavaliação toxicológica de ingredientes ativos pertencentes a esta classe de inseticidas e até mesmo na restrição ou proibição do uso, dados os potenciais efeitos para o ecossistema terrestre e aquático (HALLMANN et al., 2014).

É nesta perspectiva que apresentamos um compilado de informações de base científica com valores de CL₅₀ ou CE₅₀, CENO, CEO, DL₅₀, para organismos de solo e polinizadores (Tabela 1), para vertebrados e invertebrados de água doce (Tabela 2).

Tabela 1 - Resumo das espécies testadas e condições associadas para análise atualizada da toxicidade de neonicotinoides em organismos de solo e abelhas (2019 a 2022).

Pesticida	Espécie	Parâmetro	Duração do teste	Mensuração	Toxicidade	Referência
Imidacloprido	<i>Allolobophora caliginosa</i> (minhoca) <i>Lumbricus terrestris</i> (minhoca)	Sobrevivência		CL50	10,7 mg/kg	Gasparic et al. (2022)
Imidacloprido	<i>Eisenia andrei</i> (minhoca)	Reprodução	8 semanas	CENO CE10	0,20 a 0,30 mg/kg 0,30 mg/kg	Loon; Vicente; Gestel (2022)
Clotianidina				CENO CE10	0,125 a 0,30 mg/kg 0,70 mg/kg	
Tiacloprido				CENO CE10	0,125 a 0,30 mg/kg 0,10 mg/kg	
Clotianidina	<i>Eisenia andrei</i> (minhoca) <i>Enchytraeus crypticus</i> <i>Folsomia cãndida</i> (colêmbolo) <i>Proisotoma minuta</i> (colêmbolo) <i>Sinella curviseta</i> (colêmbolo)	-	-	CE50	4,35 mg/kg 33,5 mg/kg 0,11 a 0,28 mg/kg 0,11 a 0,28 mg/kg 0,11 a 0,28 mg/kg	Bandeira et al. (2021)
Acetamiprido	<i>Folsomia cãndida</i> (colêmbolo)	-	-	CL50	0,12 mg/kg	Silva et al. (2020)
Imidacloprida				CE50	0,25 mg/kg	
Clotianidina	<i>Eisenia andrei</i> (minhoca)			CL50 CE50	0,07 mg/kg 0,05 mg/kg	
Acetamiprido				CL50 CE50	0,80 mg/kg 0,35-0,40 mg/kg	
Imidacloprido	<i>Eisenia foetida</i> (minhoca)	Sobrevivência	-	CL50	7,24 mg/kg	Brasil (2019*)
Imidacloprido	<i>Maioria dos estudos com Apis mellifera</i> (abelha)	Sobrevivência	-	DL50	3,7 ng/abelha	EFSA (2022)
Tiametoxam Racdinotefuram R-Dinotefuram S-Dinotefuram	<i>Apis mellifera</i> (abelha)	Sobrevivência - oral	24h	DL50	5,0 ng/abelha 0,021 µg/abelha 0,079 µg/abelha 0,004 µg/abelha 0,050 µg/abelha 0,228 µg/abelha 0,002 µg/abelha	Zhang et al. (2021)
Imidacloprido	<i>Apis mellifera</i> (abelha)	Sobrevivência	-	CEO	< 2,5 ng/abelha	Ibama (2019*)
Acetamiprido Imidacloprido Tiacloprido Tiametoxam Imidacloprido	<i>Tetragonisca angustula</i> (abelha)	Sobrevivência	24h	CL50	173,26 µg/L 1,70 µg/L 54,09 µg/L 0,28 µg/L	Jacob et al. (2019)
Imidacloprido	<i>Apis mellifera</i> (abelha)	Sobrevivência	48h	DL50	0,0049 µg/abelha 0,0034 µg/abelha	Brasil (2019b)

Tabela 2 - Resumo das espécies testadas e condições associadas para análise atualizada da toxicidade de neonicotinoides em vertebrados e invertebrados aquáticos (2019 a 2022).

Pesticida	Espécie	Parâmetro	Duração do teste	Mensuração	Toxicidade	Referência
Acetamiprido	<i>Danio rerio</i> (peixe – vertebrado)	Resposta biológica	-	CE	1.70E-01 mg/L	Naumann et al. (2022)
Imidacloprido	<i>Oreochromis niloticu</i> (peixe – vertebrado)			CE	1.00E-05 mg/L	
Nitempiram	<i>Gobiocypris rarus</i> (peixe – vertebrado)			CE	5.00E-01 mg/L	
Tiacloprido				CE	2.00E-02 mg/L	
Tiametoxam	<i>Danio rerio</i> (peixe – vertebrado)			CE	4.62E-02 mg/L	
	<i>Gobiocypris rarus</i> (peixe – vertebrado)					
Imidacloprido	<i>Danio rerio</i> (peixe – vertebrado)	Sobrevivência	96h	CL50 CENO	150 mg/L 75 e 100 mg/L	Di-Paola et al. (2022)
Tiametoxam	Peixe (vertebrado)	Sobrevivência	-	CL50 CENO	> 111.000 µg/L 1700 µg/L	Brain; Prosser (2022)
Imidacloprido				CL50 CENO	> 100.000 µg/L 9.000 µg/L	
Clotianidina				CL50 CENO	> 91.400 µg/L 9.700 µg/L	
Dinotefuram				CL50 CENO	> 99.100 µg/L 6.360 µg/L	
Acetamiprido				CL50 CENO	100.000 µg/L 19.200 µg/L	
Sulfoxaflor				CL50 CENO	266.000 µg/L 650 µg/L	
Tiacloprido				CL50 CENO	19.700 µg/L 918 µg/L	
Acetamipride	<i>Silurana tropicalise</i> (rã – vertebrado)	Sobrevivência	24h	CL50	>100mg/L	Saka; Tada (2021)
Clotianidina						
Dinotefuram						
Imidacloprido						
Acetamiprido	<i>Danio rerio</i> (peixe – vertebrado)	Sobrevivência	48h	CE50	754ppm	Malhotra et al. (2021*)
Clotianidina			96h	CL50	0,1 e 1,0 ppm	
Acetamiprido	<i>Silurana tropicalis</i> (rã – vertebrado)					
Dinotefuram						
Imidacloprido						
Acetamiprido	<i>Clarias gariepinus</i> (peixe – vertebrado)		96h	CL50	265,7 ppm	
Tiametoxam	<i>Girardia tigrina</i> (planelminto - invertebrado)	Sobrevivência	96h	CL50 CENO – Regeneração CEO – Alimentação	77,6 mg/L 7,8 mg/L 7,8 mg/L	Barbosa et al. (2022)
Imidacloprido	<i>Chironomus xanthus</i> (dípteros – invertebrado)	Sobrevivência	48h	CL50	23,72 µg/L	Melo et al. (2022)
Clotianidina	<i>Penaes monodon</i> (camarão – invertebrado)	Sobrevivência	48h	CL50	190 µg/L	Butcherine et al. (2021)
Tiametoxam					390 µg/L	
Acetamiprido					408 µg/L	
Imidacloprido					500 µg/L	
Clotianidina	<i>Hyalella azteca</i> (crustáceo – invertebrado)	Sobrevivência	7d	CL50	4,0 µg/L	Bartlett et al. (2019)
Acetamiprido					4,7 µg/L	
Dinotefuram					60 µg/L	
Tiacloprido					68 µg/L	
Imidacloprido					230 µg/L	
Tiametoxam					290 µg/L	

4.6 Discussão

A utilização NNIs tem se tornado cada vez mais frequente na produção agropecuária pela sua eficácia no controle de insetos-praga (SILVA et al., 2020; TASMAN; RANDS; HODGE, 2020; ZHANG et al., 2021). Esses compostos são derivados da nicotina sintética e imitam a ação da acetilcolina, causando bloqueio do neurônio receptor e, conseqüente, morte

do inseto (RABY et al., 2018; TASMAN; RANDS; HODGE, 2020). Além disso, os NNIs são amplamente utilizados para controle de insetos-praga nas culturas, como a mosca-branca e a cigarrinha do algodão (MORRISSEY et al., 2015; RABY et al. 2018; UPL, 2020), bem como para fins zootécnicos e na medicina veterinária (ENSLEY, 2012; WANG et al., 2018). A história do uso de agrotóxicos no Brasil remonta à década de 1960, com a introdução do SNRC e a obrigatoriedade do uso de insumos químicos na agropecuária (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003; BB, 2004). A legislação federal referente ao uso adequado dos agrotóxicos foi implementada em 1989 pela Lei 7.802 (BRASIL, 1989; PELAEZ; TERRA; SILVA, 2010).

No entanto, no Brasil alguns pesticidas desta classe têm fortes recomendações para sua utilização ou estão em reavaliação toxicológica (IBAMA, 2022). O uso dos NNIs também é questionado a nível internacional, tendo sido proibido em alguns países da União Europeia (EC, 2022). A União Europeia considera o uso dos NNIs prejudicial aos insetos polinizadores, o que pode ter consequências negativas para a biodiversidade e para a produção agrícola. Em resumo, a utilização de NNIs tem sido amplamente debatida e questionada, tanto a nível nacional como internacional, sendo necessária uma avaliação rigorosa dos impactos desse inseticida sobre a produção agropecuária e o meio ambiente.

Com base em nosso estudo, a toxicidade de diferentes pesticidas em espécies de minhocas e colêmbolos, bem como em abelhas, foi avaliada por diversos pesquisadores. Em geral, os resultados indicam que os pesticidas IMI e CLO são altamente tóxicos para as minhocas, com CL_{50} e CE_{50} variando entre 0,07 mg/kg e 33,5 mg/kg (BRASIL, 2019; SILVA et al. 2020; BANDEIRA et al. 2021; GASPARIC et al., 2022; LOON; VICENTE; GESTEL, 2022). Já em abelhas, a toxicidade varia entre os diferentes pesticidas, com o IMI e o TMX sendo considerados os mais tóxicos, com DL_{50} de < 2,5 ng/abelha e 5,0 ng/abelha, respectivamente (BRASIL, 2019; IBAMA, 2019; JACOB et al., 2019; ZHANG et al. 2021; EFSA, 2022). Além disso, os resultados também sugerem que os colêmbolos apresentam uma sensibilidade moderada à CLO, com CE_{50} variando entre 0,11 e 0,28 mg/kg (SILVA et al., 2020; BANDEIRA et al. 2021).

Em relação às abelhas da espécie *Tetragonisca angustula*, o IMI é menos tóxico quando comparado ao TMX, com CL_{50} de 1,70 µg/L, enquanto a CL_{50} do TMX é igual a 0,28 µg/L (JACOB et al., 2019). Conforme dados apresentados para *T. angustula*, o TMX se mostrou mais tóxico, seguido pelo IMI e TIA, e o ACE foi o menos tóxico destes quatro pesticidas (JACOB et al. 2019). Os dados sugerem que os pesticidas IMI, CLO e ACE têm diferentes níveis de toxicidade para diferentes espécies de minhocas e colêmbolos (SILVA et

al. 2020; BANDEIRA et al. 2021; GASPARIC et al., 2022; LOON; VICENTE; GESTEL, 2022).

A toxicidade de pesticidas para organismos de solo e terrestres varia amplamente. O IMI é altamente tóxico para minhocas como *Allolobophora caliginosa*, *Lumbricus terrestris* e *Eisenia foetida*, com CL_{50} de 7,24 mg/kg e 10,7 mg/kg, respectivamente (BRASIL, 2019; SILVA et al. 2020; BANDEIRA et al. 2021; GASPARIC et al., 2022; LOON; VICENTE; GESTEL, 2022). A CLO é altamente tóxica para a minhoca *Eisenia andrei* (apresentou grande sensibilidade), com CE_{50} de 0,05 mg/kg (CL_{50} de 0,07 mg/kg) a 4,35 mg/kg, mas é menos tóxica para colêmbolos (CE_{50} variando de 0,11 a 0,28 mg/kg) (BRASIL, 2019; SILVA et al. 2020; BANDEIRA et al. 2021; GASPARIC et al., 2022; LOON; VICENTE; GESTEL, 2022), embora os colêmbolos tenham grande sensibilidade por serem parentes filogenéticos dos insetos (SILVA et al., 2020). O ACE foi moderadamente tóxico para minhocas e colêmbolos, com CL_{50} e CE_{50} variando entre 0,12 mg/kg a 0,80 mg/kg e 0,35-0,40 mg/kg, respectivamente (BRASIL, 2019; SILVA et al. 2020; BANDEIRA et al. 2021; GASPARIC et al., 2022; LOON; VICENTE; GESTEL, 2022).

Os resultados dos estudos com animais aquáticos mostram que a toxicidade dos pesticidas varia entre os organismos testados, com concentrações letais que variam de acordo com o tipo de pesticida e a espécie de animal testada (BARTLETT et al. 2019; SAKA; TADA, 2021; BUTCHERINE et al., 2021; MALHOTRA et al., 2021; BARBOSA et al., 2022; MELO et al., 2022; NAUMANN et al., 2022; DI-PAOLA et al., 2022; BRAIN; PROSSER, 2022). Segundo Morrissey et al. (2015), pesquisas indicam ainda que insetos das ordens Ephemeroptera, Trichoptera e Diptera parecem ser mais sensíveis aos NNIs, enquanto aqueles pertencentes à Crustacea parecem ser menos sensíveis. A toxicidade dos pesticidas também varia entre os grupos de vertebrados e invertebrados (WANG et al., 2018; RABY et al., 2018; SILVA et al., 2020; DI-PAOLA et al. 2022). Em geral, conforme a Tabela 2, os pesticidas mostraram ser mais tóxicos para os invertebrados do que para os vertebrados.

Este estudo mostra a toxicidade de diferentes pesticidas para vários organismos de solo e terrestres (minhocas, colêmbolos e abelhas) e aquáticos vertebrados e invertebrados (peixes, rãs, planária, camarão e crustáceo) com diferentes parâmetros e durações de teste. A medida de toxicidade varia de estudo para estudo, mas inclui CL_{50} , CE_{50} , DL_{50} , CEO, CENO. No entanto, é importante destacar que a toxicidade dos pesticidas pode variar entre espécies e depende de muitos fatores, como a dose, a duração do teste e a via de exposição. Tendo estes resultados como referência, conclui-se que os pesticidas apresentam impactos significativos na saúde de espécies importantes do ecossistema, como minhocas, abelhas, rãs, peixes,

planárias, camarões, dípteros e crustáceos, sendo necessário considerar a toxicidade desses produtos. Além disso, pode-se destacar a importância de pesquisas futuras para avaliar a toxicidade de outros pesticidas e para o desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis e seguras para a agricultura. Importante enfatizar que a avaliação contínua dos impactos dos NNIs na produção agropecuária e no meio ambiente é crucial para garantir a segurança ambiental e a saúde humana, equilibrando-se com a eficácia no controle de insetos-praga.

4.7 Considerações

A utilização dos NNIs tem sido objeto de ampla controvérsia pelos seus impactos tanto na produção agrícola quanto no meio ambiente. Em algumas nações, o uso de NNIs é proibido, uma vez que é considerado prejudicial aos insetos polinizadores, incluindo abelhas (ANDERSON, DUBETZ, PALACE, 2015; IBAMA, 2022; EC, 2022). Este estudo apresenta evidências robustas de que a utilização dos NNIs pode ter impacto negativo na biodiversidade ao avaliar a toxicidade dos pesticidas em diferentes espécies e constatar que a toxicidade varia significativamente entre elas (MORRISSEY et al., 2015; SILVA et al., 2020). Contudo, é importante ressaltar que as abelhas são uma das espécies mais afetadas pela utilização dos NNIs (TASMAN; RANDS; HODGE, 2020; JACOB et al., 2019; ZHANG et al., 2021), e o declínio de suas populações tem implicações graves para a polinização e, conseqüentemente, para a produção agrícola. Além disso, a contaminação do solo e da água por NNIs pode ter impactos negativos na saúde humana (MORRISSEY et al., 2015; THOMPSON et al., 2020; STINSON et al., 2022). Por fim, é vital que as decisões regulatórias relacionadas aos NNIs sejam tomadas com base em evidências científicas sólidas e que sejam implementadas medidas para minimizar seus impactos negativos.

4.8 Referências

ANDERSON, J. C.; DUBETZ, C.; PALACE, V. P. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. **Science of the Total Environment**, 1 fev. 2015.

ASSALIN, M. R. et al. Preliminary Studies: Applied To Nanoencapsulation of Neonicotinoid Insecticide: Thiamethoxam. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, p. 261–264, 2017.

BANDEIRA, F. O. et al. Chronic effects of clothianidin to non-target soil invertebrates: Ecological risk assessment using the species sensitivity distribution (SSD) approach. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, n. 5, 2021.

BARBOSA, R. S. et al. Eco(toxicological) Assessment of the Neonicotinoid Formulation Actara ® Using Planarian *Girardia tigrina* as Model Organism. **Pollutants**, p. 546–555, 2022.

BARTLETT, A. J. et al. Acute and chronic toxicity of neonicotinoid and butenolide insecticides to the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. **Elsevier**, v. 175, p. 215–223, 2019.

BB. Evolução histórica do crédito rural. **Revista da Política Agrícola**, v. 13, p. 10–17, 2004.

BONMATIN, J. M. et al. Residues of neonicotinoids in soil, water and people's hair: A case study from three agricultural regions of the Philippines. **Science of the Total Environment**, v. 757, p. 143822, 2021.

BRAIN, R. A.; PROSSER, R. S. Human induced fish declines in North America, how do agricultural pesticides compare to other drivers? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 44, p. 66010–66040, 2022.

BRASIL. Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989. P. 1–7, 1989.

BRASIL; IBAMA. Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas. **Ibama – MMA**, p. 24, 2019b.

BRASIL; IBAMA. **Perfil Ambiental – Imidacloprido**. Disponível em: <[http://ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/perfis-ambientais/2019/Perfil Ambiental - Imidacloprido - 02_10_2019.pdf](http://ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/perfis-ambientais/2019/Perfil_Ambiental_-_Imidacloprido_-_02_10_2019.pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2022.

BUTCHERINE, P. et al. Acute toxicity, accumulation and sublethal effects of four neonicotinoids on juvenile Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). **Chemosphere**, v. 275, 2021.

CAHILL, M. et al. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 86, n. 4, p. 343–349, 1996.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente**, n. c, p. 1–40, 2003.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81–106, 2007.

DI-PAOLA, D. et al. Combined Effects of Potassium Perchlorate and a Neonicotinoid on Zebrafish Larvae (*Danio rerio*). **Toxics**, v. 10, n. 5, 2022.

DORNELAS, A. S. P. et al. Effects of two biopesticides and impact on behaviour, regeneration and sexual reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, 15 fev. 2021.

DORNELAS, A. S. P. et al. The sexual reproduction of the nontarget planarian *Girardia tigrina* is affected by ecologically relevant concentrations of difenoconazole: new sensitive tools in ecotoxicology. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 0123456789,

2022.

EC. **Neonicotinoids: Some facts about neonicotinoids.** Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/approval_active_substances%0A/approval_renewal/neonicotinoids_en>. Acesso em: 10 nov. 2022.

EC. **Neonicotinoids Emergency authorisations in the Member States Some facts about neonicotinoids.** Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewalapproval/neonicotinoids_en>. Acesso em: 23 nov. 2022.

EFSA. **Bee health.** Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bee-health>>. Acesso em: 22 nov. 2022b.

ENSLEY, S. M. Neonicotinoids. **Veterinary Toxicology**, p. 596–598, 2012.

GALLAI, N. et al. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, v. 68, n. 3, p. 810–821, 2009.

GASPARIC, H. V.; LEMIC, D.; BAZOK, R. Neonicotinoid Residues in Earthworms and Ground Beetles under Intensive Sugar Beet Production: Preliminary Study in Croatia. **Agronomy**, v. 12, n. 9, p. 0–7, 2022.

GIANNINI, T. C. et al. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015.

GONÇALVES, M. S. Uso sustentável de pesticidas. Análise comparativa entre a União Europeia e o Brasil. **Universidade de Lisboa Faculdade de Ciências**, 2016.

GUPTA, S. et al. Leaching behavior of imidacloprid formulations in soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, n. 4, p. 502–508, 2002.

HAGEN, M. et al. Biodiversity, Species Interactions and Ecological Networks in a Fragmented World. 1. ed. **Elsevier Ltda**, 2012. v. 46

HALLMANN, C. A. et al. Declines in insectivorous impact are associated with high neonicotinoid concentrations. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 341–343, 2014.

HAYASAKA, D. et al. Cumulative ecological impacts of two successive annual treatments of imidacloprid and fipronil on aquatic communities of paddy mesocosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 355–362, 2012.

HERBERT, L. T. et al. Acute neurotoxicity evaluation of two anticholinesterasic insecticides, independently and in mixtures, and a neonicotinoid on a freshwater gastropod. **Chemosphere**, v. 265, 2021.

HLADIK, M. L.; MAIN, A. R.; GOULSON, D. Environmental Risks and Challenges Associated with Neonicotinoid Insecticides. **Environmental Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3329–3335, 2018.

HS, P.; SN, S. Botanicals: Potential plant protection chemicals: A review. **International**

Journal of Chemical Studies, v. 6, n. 3, p. 217–222, 2018.

IBAMA. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores. **Instituto Brasileiro De Recursos Naturais Renováveis – Ibama**, p. 1–298, 2019b. Acesso em: 11 nov. 2022.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SEGUI, L.; FRANCOY, T. M. O. Desaparecimento das Abelhas Melíferas (*Apis mellifera*) e as Perspectivas do Uso de Abelhas Não Melíferas na Polinização. **Embrapa**, p. 1–14, 2012.

JACOB, C. R. DE O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 1 jun. 2019.

KOBASHI, K. et al. Comparative ecotoxicity of imidacloprid and dinotefuran to aquatic insects in rice mesocosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, n. December 2016, p. 122–129, 2017.

LI, F.; LIN, X.; LIU, J. Variability of urinary biomarkers of neonicotinoid insecticides in Chinese population: Implications for human exposure assessment. **Chemosphere**, v. 307, n. P1, p. 135705, 2022.

LI, X. et al. Neonicotinoid insecticides promote breast cancer progression via G protein-coupled estrogen receptor: In vivo, in vitro and in silico studies. **Environment International**, v. 170, n. October, p. 107568, 2022b.

LI, Z. M.; ROBINSON, M.; KANNAN, K. Um assessment of exposure to several classes of pesticides in pet dogs and cats from New York, United States. **Environment International**, v. 169, n. July, p. 107526, 2022.

LÓPEZ, A. M. C. et al. Behavioral parameters of planarians (*Girardia tigrina*) as fast screening, integrative and cumulative biomarkers of environmental contamination: Preliminary results. **Water (Switzerland)**, v. 13, n. 8, 2 abr. 2021.

LOON, S. VAN et al. Long - Term Effects of Imidacloprid, Thiacloprid, and Clothianidin on the Growth and Development of *Eisenia andrei*. **Environmental Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 1686–1695, 2022.

LOURENCAO, A. L.; NAGAI, H. Outbreaks of *Bemisia tabaci* in Um Paulo State, Brazil. **Bragantia**, v. 53, n. 1, p. 53–59, 1994.

MA, Y. et al. A novel, efficient and sustainable magnetic sludge biochar modified by graphene oxide for environmental concentration imidacloprid removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, n. December 2020, 2021.

MAGALHÃES, D. DE P.; FILHO, A. DA S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.** 2008.

MALHOTRA, N. et al. Physiological effects of neonicotinoid insecticides on non-target aquatic animals—um updated review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22,

n. 17, 2021.

MELO, B. S. et al. Is there a common mechanism of neonicotinoid resistance among insects? Preliminary results show that F1 larvae of pre-exposed *Chironomus xanthus* are more tolerant to imidacloprid. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 6, n. February, p. 100073, 2022.

MORRISSEY, C. A. et al. Neonicotinoid contamination of global surface impact and associated risk to aquatic invertebrates: A review. **Environment International**, 1 jan. 2015.

NAUEN, R. et al. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 76, n. 2, p. 55–69, 2003.

NAUMANN, T. et al. Occurrence and ecological risk assessment of neonicotinoids and related insecticides in the Bohai Sea and its surrounding rivers, China. **Water Research**, v. 209, n. November 2021, 2022.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. Ecotoxicologia Terrestre Métodos e Aplicações dos Ensaio com Oligoquetas. **Embrapa**, 2019.

OFOEGBU, P. U. et al. Toxicity of tributyltin (TBT) to the freshwater planarian *Schmidtea mediterranea*. **Chemosphere**, v. 148, p. 61–67, 2016.

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. DA. Agrochemical regulation in Brazil: market power vs. Health and environment defense. **Revista de Economia**, v. 36, p. 27–48, 2010.

PERRY, T. et al. Role of nicotinic acetylcholine receptor subunits in the mode of action of neonicotinoid, sulfoximine and spinosyn insecticides in *Drosophila melanogaster*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 131, n. January, p. 103547, 2021.

PESTICIDY-RU. **Неоникотиноиды**. Disponível em: <https://www.pesticity.ru/group_substances/neonicotinoids>. Acesso em: 23 out. 2022.

PIRES, C. S. S. et al. Weakness and collapse of bee colonies in Brazil: Are there cases of CCD? **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422–442, 2016.

PISA, L. W. et al. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 68–102, 2014.

PMRA. **Re-evaluation Decision RVD2021-05, Imidacloprid and Its Associated End-use Products**. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/reports-publications/pesticides-pest-management/decisions-updates/reevaluation-decision/2021/imidacloprid.html>>. Acesso: 22 dez. 2022.

RABY, M. et al. Acute toxicity of 6 neonicotinoid insecticides to freshwater invertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1430–1445, 2018.

REIS, E. B. et al. Responses of Freshwater Planarian *Girardia tigrina* to Fipronil-Based Insecticide: Survival, Behavioral and Physiological Endpoints. **Diversity**, v. 14, n. 9, p. 698,

2022.

SAEED, R.; RAZAQ, M.; HARDY, I. C. Impact of neonicotinoid seed treatment of cotton on the cotton leafhopper, *Amrasca devastans* (Hemiptera: Cicadellidae), and its natural enemies. **Pest Management Science**, v. 72, n. 6, p. 1260–1267, 2016.

SAKA, M.; TADA, N. Acute and chronic toxicity tests of systemic insecticides, four neonicotinoids and fipronil, using the tadpoles of the western clawed frog *Silurana tropicalis*. **Chemosphere**, v. 271, p. 129–418, 2021.

SARAIWA, A. S. et al. Assessment of thiamethoxam toxicity to *Chironomus riparius*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 137, p. 240–246, 1 mar. 2017.

SILVA, C. DE L. E et al. Toxicity in Neonicotinoids to *Folsima candida* and *Eisenia andrei*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 39, n. 3, p. 548–555, 2020.

SGOLASTRA, F. et al. Bees and pesticide regulation: Lessons from the neonicotinoid experience. **Biological Conservation**, v. 241, n. November 2019, p. 108356, 2020.

SHEN, C. et al. Predicting and assessing the toxicity and ecological risk of seven widely used neonicotinoid insecticides and their aerobic transformation products to aquatic organisms. **Science of the Total Environment**, v. 847, n. July, p. 157670, 2022.

SILVA, L. C. R. et al. Do bio-insecticides affect only insect species? Behavior, regeneration, and sexual reproduction of a non-target freshwater planarian. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021.

SILVA, L. D. et al. Monitoring the susceptibility to insecticides in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 116–125, 2009.

SOUZA, R. M. et al. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 135, p. 22–37, 2020.

STINSON, S. A. et al. Agricultural surface water, imidacloprid, and chlorantraniliprole result in altered gene expression and receptor activation in *Pimephales promelas*. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150920, 2022.

STOUGHTON, S. J. et al. Acute and chronic toxicity of imidacloprid to the aquatic invertebrates *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca* under constant- and pulse-exposure conditions. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, n. 4, p. 662–673, 2008.

TAILLEBOIS, E. et al. Neonicotinoid insecticides mode of action on insect nicotinic acetylcholine receptors using binding studies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 151, p. 59–66, 2018.

TASMAN, K.; RANDS, S. A.; HODGE, J. J. L. The Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid Disrupts Bumblebee Foraging Rhythms and Sleep. **iScience**, v. 23, n. 12, p. 101827, 2020.

THOMPSON, D. A. et al. A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 23, n. 678.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, Principles and Perspectives. **The Evaluation of Toxicological Data for the Protection of Public Health**, p. 373–413, 1977.

US-EPA. **Imidacloprid: Proposed Interim Registration Review Decision**. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-%252001/documents/imidacloprid_pid_signed_1.%252022.2020.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2022.

VUONG, A.; ZHANG, C.; CHEN, A. Associations of neonicotinoids with insulin and glucose homeostasis parameters in US adults: NHANES 2015–2016. **Chemosphere**, v. 286, n. 1, 2022.

WANG, A. et al. Neonicotinoid insecticide metabolites in seminal plasma: Associations with semen quality. **Science of the Total Environment**, v. 811, n. 4, p. 151–407, 2022.

WANG, X. et al. Mechanism of Neonicotinoid Toxicity: Impact on Oxidative Stress and Metabolism. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 58, p. 471–507, 2018.

WOOD, T. J.; GOULSON, D. The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 21, p. 17285–17325, 2017.

ZHANG, D.; LU, S. Human exposure to neonicotinoids and the associated health risks: A review. **Environment International**, v. 163, p. 107201, 2022.

ZHANG, Q. et al. Toxicological Effect and Molecular Mechanism of the Chiral Neonicotinoid Dinotefuran in Honeybees. **Environmental Science & Technology**, 2021.

5. ARTIGO TÉCNICO

CAPTURA E MANEJO DE ABELHAS NATIVAS: UM GUIA NO ÂMBITO DE MANUTENÇÃO DE CULTURAS PARA USO EM ENSAIOS LABORATORIAIS

RESUMO

No grupo dos insetos, as abelhas nativas são imprescindíveis ao atuar no setor econômico e ecossistêmico. De alto valor comercial, produzem mel (com características medicinais únicas, antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e hidratantes), além de serem importantes polinizadoras, que cooperam na diversificação biológica das plantas, e respondências ecológicas entre espécies nativas ou exóticas. No entanto, esses organismos têm sofrido declínio a longo prazo e em escala, pelo que estudos laboratoriais com abelhas nativas têm sido cada vez mais comuns e necessários, ao passo que informações técnicas são, em sua maioria, avulsas. Neste sentido, dada a escassez e as limitações de guias técnicos voltados para captura, criação e manutenção de abelhas nativas com a finalidade de estudos laboratoriais, o presente estudo objetivou elaborar um guia técnico nesta vertente, com vistas a auxiliar pesquisadores e técnicos atuantes em estudos com abelhas nativas. No presente Guia Técnico, o processo de captura utiliza garrafas PETs e caixas Tetra Pak, visando reduzir, reaproveitar e readaptar, pelo que apresenta baixo custo e, também, assinala alternativas de poucos gastos para obtenção e criação das abelhas nativas, contribuindo ainda para com o agroecossistema e o meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Abelhas sem ferrão, guia técnico, colônias, uso laboratorial

ABSTRACT

In the insect group, native bees are essential to act in the economic and ecosystem sector. They produce honey of high commercial value with unique medicinal properties, antioxidants, antimicrobials, anti-inflammatory, and moisturizing properties, and are important pollinators, contributing to the plant biological diversity and the ecological interdependence between native and exotic species. However, these organisms have been experienced long-term and scaled decline, and lab studies on native bees have become increasingly common and needed, while technical information is mostly isolated. In this sense, this study aimed to develop a technical guide in this field to assist researchers and technicians who are involved in studies with native bees, because there are scarcity and limitations of technical guides focused on capturing, breeding, and maintaining native bees for lab studies. In this Technical Guide, the capture process uses Polyethylene Terephthalate bottles and Tetra Pak boxes of low cost, aiming at reducing, reusing, and readapting the material, indicating low-cost alternatives for getting and beekeeping native bees, contributing to the agroecosystem and the environment.

KEYWORDS: Colonies, lab usage, stingless bees, technical guide.

5.1 Importância e Relevância

A agricultura tem se beneficiado significativamente da polinização por abelhas sem ferrão, que fornecem insumos para a produção de fibras, óleos e biocombustíveis, além da produção para consumo (EMBRAPA, 2022^a). A criação de abelhas nativas para fins de produção tem se mostrado uma alternativa popular pela sua facilidade de manutenção (IBAMA, 2022) e pelo menor tempo despendido (EMBRAPA, 2022^b). A aquisição por ninhos de captura (Anexo A) é regulamentada pela Resolução CONAMA nº 346, de 2004, permitindo até 49 colônias. No entanto, alguns estados dispõem de legislação específica (ABELHA, 2022^a).

Este estudo foi conduzido como parte do projeto de mestrado da Aline Arantes de Oliveira, orientado pelo Professor Dr. Althiéris de Souza Saraiva, envolvendo mestrandos, graduandos e meliponicultores, com colaboração entre os Campi IF Goiano – Campus Campos Belos e IF Goiano Campus Rio Verde. O objetivo principal é disseminar conhecimentos inovadores e práticas sustentáveis e economicamente viáveis, no âmbito da criação de abelhas nativas do Brasil. Este guia, baseado na literatura técnica e científica, bem como no conhecimento técnico e empírico, fornece informações importantes sobre a captura e manejo dessas abelhas para uso em ensaios laboratoriais. A exemplo da coleta de abelhas na entrada das colônias, que pode ser utilizada para diversos estudos, incluindo identificação de patógenos, estudos genéticos, estudos de ecotoxicologia e estudos de comportamento, como a comunicação entre as abelhas, a divisão de tarefas e a dinâmica das colônias. É importante mencionar que informações sobre a manipulação de abelhas sem ferrão são escassas na forma de guias técnicos relacionados à cultura para estudos em âmbito laboratorial, como testes de ecotoxicidade.

5.2 Etapas para Captura, Manejo e Criação de Abelhas Nativas Sem Ferrão – Com Enfoque em Ninhos

1º Passo – Ninhos-isca ou ninhos-armadilhas

Ninhos-isca (ou ninhos-armadilha) é uma técnica importante para coletar abelhas sem ferrão para fins de pesquisa e ensaios ecotoxicológicos. Essa técnica consiste em criar condições de habitats naturais que sejam atraentes para as abelhas e estimulem a nidificação.

Uma das formas mais comuns de criar esses habitats simulados é o uso de ninhos-isca ou ninhos-armadilha. Esses ninhos podem ser feitos com diversos materiais, mas as alternativas mais comuns são garrafas PET e Tetra Pak, pois são baratas e sustentáveis (EMBRAPA, 2022b). Para atrair as abelhas, é possível utilizar diferentes tipos de atrativos, incluindo capim cidreira, propólis, atrativo comercializado ou de fabricação própria, sendo alguns mais recomendados quando se almeja uma espécie específica.

2º Passo – Instalação

A instalação dos ninhos-isca deve ser feita em locais estratégicos com tendência ao favorecimento da captura (áreas com boa densidade de abelhas nativas, como florestas ou campos com grande variedade de plantas), em árvores entrelaçadas (entroncamentos) (AMA, 2023), variação em altura (os ninhos podem ser enterrados ou com 1 a 2 metros de altura, ou mais de 4 metros de altura, caso das *Scapitotrigonas*), normalmente livres de sol e chuva (FORJAZ, 2022). É recomendável diversificar tamanhos e alturas para aumentar as chances de captura de diferentes espécies.

A instalação dos ninhos nas proximidades das colônias mãe pode favorecer a captura, dentro de uma distância de cerca de 200 metros (AMA, 2022). As iscas podem ser presas com fita adesiva, plástico PVC, barbante, arame ou encaixe natural em entroncamentos de árvores ou aterros. Além disso, é possível fazer a captura em ambientes urbanos, como blocos de concreto, espaços entre casas, postes etc.

3º Passo – Acompanhamento

O acompanhamento provém do conhecimento, cuja relação das abelhas com o ambiente ocorre de diferentes formas, cada colônia com sua especificidade/aptidão. Porém, as condições da colônia, se estão evoluindo ou não, evidenciam a necessidade de ações preventivas e/ou corretivas, que as deixem fortes, com elevada produção (POTTS et al., 2016). Não há um caminho que direcione a decisão correta. No entanto, segundo a Associação Brasileira de Estudos das Abelhas (2022b), alguns indicadores podem auxiliar. Ou seja, rápidas inspeções, no sentido de evitar resultados negativos. Devem-se observar:

1. Crias como ovos, larvas e pupas (como indicador de danos, doenças ou inimigos naturais);

2. Potes de alimentos como mel e pólen (denotam a saúde e a eficácia das campeiras);
3. Presença da rainha e postura;
4. Tamanho populacional;
5. Existência da realeira (trigoniformes);
6. Sinal de predadores ou aflições (doenças);
7. Situação dos quadros de cria, nichos, caixa, divisórias;
8. Enfraquecimento das abelhas/colônia (a união de colônias é uma boa alternativa, vez que diminui o número de colônias, aumenta a população, tornando-as mais produtivas e resistentes às adversidades); e
9. O manejo adequado, que depende do objetivo almejado.

4º Passo – Como identificar a captura?

Para reprodução de enxames nativos há duas maneiras: mediante uma rainha e milhares de operárias (fêmeas) ou produção de zangões (machos); em uma relação mutualística de troca energética entre as operárias produtoras (que trabalham) e os zangões, que asseguram a reprodução, em diferentes colônias (LEMANSKI; FEFFERMAN, 2017). No entanto, existem técnicas de reprodução artificial ou forçada, que não recomendamos neste estudo.

O processo de enxameação, divisão natural da colônia, está diretamente relacionado à colônia como um todo, não apenas à rainha (SILVA et al., 2021), quando ocorre uma superpopulação colonial, ou seja, quando a colônia atinge seu limite máximo, o que incorre em riscos de eficiência e eficácia. A enxameação está correlacionada em um contexto generoso de doação de fontes alimentares, pólen e néctar, além de cera (UDAYAKUMAR; SHYLESHA; SHIVALINGASWAMY, 2021).

O início ocorre pela identificação necessária de nova moradia. Parte das abelhas operárias deixa a “colônia-mãe” em busca de lugar propício a uma nova residência (nidificação). Para que essa divisão ocorra, a nova moradia carece de insumos da colônia mãe (doadora), então a “colônia-mãe” e a “colônia-filha” permanecem conectadas por alguns dias (UDAYAKUMAR; SHYLESHA; SHIVALINGASWAMY, 2021). Após a organização do novo “habitat – ninho”, uma comitiva de operárias e uma rainha virgem migram para o novo local (FRANCISCO et al., 2006). Posteriormente, a rainha virgem será fecundada em um voo denominado

“nupcial” por um zangão. Ao final da fecundação, a rainha, agora uma poedeira, retorna à colônia e passa a exercer sua função de postura e controle (VILLAS-BÔAS, 2012).

5º Passo – Quando transferir para caixa racional?

O processo de enxameação da colônia mãe para a colônia filha é de efeito contínuo, e o tempo e a duração dependem da espécie, na condição de dias a meses. Nesse sentido, o responsável pela armadilha deve periodicamente verificar se houve nidificação, aguardar determinado prazo, normalmente superior a 60 dias, visto que, antes desse período, o ninho filho depende do ninho mãe e ainda não iniciou o primeiro ciclo de nascimentos, para posteriormente transferir (EMBRAPA, 2022b).

A nidificação pode levar mais de 50 dias, incluindo mais de 20 dias para a formação da rainha, mais 5 dias para a postura após fecundação, cerca de 25 dias para emergirem novas abelhas após a postura dos ovos.

6º Passo – Como transferir?

A transferência deve ser feita nos dias em que a temperatura estiver acima de 23 °C (a depender da região – normalmente entre 8h e 11h da manhã), para não descompensar a temperatura interna. Segundo Embrapa (2009), para evitar perdas de campeiras, operárias e guardas, é necessário identificar a espécie, observar as características do ninho e utilizar os materiais necessários (caixa racional ou colmeia – termo usualmente utilizado para definição da estrutura quando se refere a abelhas nativas, fita adesiva, estilete e sugador entomológico). Algumas simples etapas asseguram a saúde da colônia:

1. A nova colônia deve ser transferida com os discos de cria e a rainha;
2. Para a transferência da rainha, invólucros podem ser utilizados, de modo a evitar acidentes ou rejeição da colônia por conta do cheiro das mãos do meliponicultor;
3. Os discos de cria devem ser alocados na posição em que se encontravam na colônia filha, sendo necessário que haja espaço suficiente para o livre deslocamento das abelhas;
4. O espaço pode ser estabelecido ao colocar pedaços de cerume;

5. Os discos de cria de coloração escura, que são os mais novos, não podem sofrer impactos ou virados ao revés, pois as larvas constantes nos ovos poderão morrer afogadas no alimento larval;
6. No ato da transferência, própolis e cerume devem ser alocados na nova morada;
7. Um sugador de insetos (entomológico) poderá ser utilizado para transferência das novas operárias (recém emergidas que não voam);
8. Colônias que tiveram potes de alimentos abertos ou expostos devem ser manuseados, e os potes mais comprometidos, removidos imediatamente, por atrair inimigos naturais;
9. Potes intactos ou com pequenos desgastes podem ser recuperados e retornar para a colônia;
10. Em transferências, o tubo de entrada do ninho deve ser removido e transferido para a nova caixa;
11. O tubo de entrada deve permanecer na mesma posição anterior à transferência a fim de facilitar o reconhecimento da moradia e agilidade no retorno aos trabalhos;
12. O manejo de transposição usualmente recomendado deve ser feito ao cair da noite, fechando a entrada das abelhas com pequenos panos, esponja de aço ou materiais semelhantes;
13. Deve-se ainda respeitar um intervalo de 15 dias da transferência em si, do transporte do ninho para o local definido;
14. Ou seja, transpõe-se (em local definitivo) e/ou transfere-se para a caixa racional após 2 semanas, a pelo menos 1 km do local de origem);
15. A colônia deve ser inspecionada (condição de transporte), as frestas vedadas e os nichos lacrados ou selados com fita adesiva que sustente o transporte;
16. É importante observar que as espécies não devem receber mais espaço do que o necessário; e
17. Se necessário, uma fonte adicional de alimento também deve ser fornecida.

7º Passo – Cuidados necessários (inimigos naturais)

Em primeiro lugar, para os principais inimigos naturais (homem, formigas e forídeos), simples técnicas são resolutivas (SANTOS et al., 2021). No entanto, outros organismos carecem de atenção, incluindo aranhas e lagartos (VALE et al., 2019).

Com relevante destaque, tem-se o “homem” que, ao retirar mel e manipular de forma inadequada, é capaz de enfraquecer, bem como deixar as abelhas susceptíveis a predadores (MIRANDA et al., 2016; ROSA et al., 2019). Para proteger da ação humana, ninhos, iscas e caixas carecem de identificação (informativos). Não menos importante, a instalação “adequada” é outro método eficaz contra esse inimigo, devendo ser priorizadas áreas restritas “controladas”, próximas a ambientes naturais (TEIXEIRA, 2013; KALUZA et al., 2018).

Para o controle de formigas, graxa, óleo queimado ou água, no suporte, pés ou borda de acesso das caixas mostram boa contenção (BECKER et al., 2015). Recomenda-se que as caixas/ninhos com abelhas não tenham contato direto com o solo. Sugere-se ainda destruir ninhos de formigas nas proximidades das colônias, capinas frequentes para prevenir a camuflagem de inimigos naturais, suportes e cavaletes (EMBRAPA, 2004), salvo para espécies que nidificam diretamente no solo.

Em relação aos forídeos, uma “caça-forídeos” simples é eficaz. A armadilha é confeccionada com um pequeno recipiente (garrafa PET reaproveitada). O frasco é perfurado na tampa ou na lateral, em tamanho grande o suficiente para entrada dos forídeos, mas que impeça a entrada de abelhas (CONTRERA; VENTURIERI, 2008). Recomenda-se a adição a “meio pote” de vinagre de vinho tinto (OLIVEIRA; VENTURIERI; CONTRERA, 2013). Posteriormente, deve-se alocar na colônia, referir-se à armadilha. Se necessário, os forídeos poderão ser removidos via sugador-entomológico feito com mangueira transparente e pote reciclado (CAMARGO et al., 2015).

Inclusive, as aranhas podem caçar mediante estratégia de “senta e espera”, pelo que “carece” de extrema atenção, bastando, no entanto, removê-las (EMBRAPA, 2009). Lagartos e lagartixas são predadores com poder devastador (VALE et al., 2019). Para afastar esses inimigos, instale um pequeno funil na entrada da caixa (gargalo de uma garrafa PET), impedindo o acesso às abelhas (CARVALHO-ZILSE et al., 2005).

8º Passo – Cientista consciente – O que fazer?

Para garantir o bom manejo dos ensaios ecotoxicológicos, é importante ser um cientista consciente e adotar práticas sustentáveis e éticas. Algumas orientações incluem:

1. Priorizar alternativas agroecológicas, como recomendado pelo Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2004);
2. Seguir as orientações do Manual do Ibama (BRASIL; IBAMA, 2019);
3. Prover fontes alimentares adequadas, como xarope artificial e pólen, quando necessário (MMA, 2012);
4. Buscar alternativas preventivas e resolutivas para lidar com inimigos naturais, pragas e outras espécies de abelhas (BECKER et al., 2015);
5. Realizar manutenção semanal ou diária, conforme necessário, para garantir o bom andamento do meliponário; e
6. Buscar sempre se atualizar com as novas informações científicas e tecnológicas para melhorar as técnicas e métodos de coleta e manejo das abelhas.

9º Passo – Devo fornecer fonte energética ou proteica? O que é isso?

Em épocas de entressafra quando a disposição alimentar é baixa (florada), fontes alimentares complementares (energética e proteica) devem ser adotadas. Ao considerar que as campeiras (operárias) estão livres, sendo passíveis da busca por alimento, concebe-se que esses organismos polinizadores sejam semidomesticado por receberem alimentação complementar, diferente de outros animais. Fornecer essas fontes assegura o fortalecimento e o desenvolvimento das colônias (FREITAS et al., 2020).

A receita de xarope é de simples preparo, bastando dissolver açúcar em água na proporção de 1:1, até solubilizar completamente (EMBRAPA, 2022c). Açúcar refinado deve ser evitado, por ter produtos químicos. Diversos modelos de alimentadores podem ser utilizados para o fornecimento do xarope. O modelo mais utilizado e de baixo custo consiste em um pequeno recipiente ou tampa plástica, de material resistente, de tamanho apropriado e compatível com o tamanho dos potes de alimentos da colônia (EMBRAPA, 2022c). O material resistente impede que seja destruído pela mandíbula das abelhas.

Para evitar afogamento no xarope por escorregamento, pedaços de palito de picolé, palito roliço de madeira, cera, cerume ou algodão são boas alternativas. Pesquisas de meliponicultores e cientistas apontam alternativas que substituem o pólen natural ou bee bread, por exemplo o pólen de *Apis*. Observação: por ser floral e sem processamento, o pólen de *Apis* pode ser utilizado como cossustituto, desde que tenha procedência, para não haver contaminação da colônia por doenças advindas de *Apis* para as ASF.

5.3 Coleta de Abelhas

A coleta de abelhas para fins de ensaios ecotoxicológicos é uma etapa fundamental para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Segundo Jacob et al. (2019), para esses ensaios, devem ser utilizadas abelhas operárias coletadas da entrada do ninho de pelo menos de três colônias saudáveis, com a finalidade de assegurar uma padronização eficaz. Além disso, é importante utilizar gaiolas experimentais em recipientes de fácil limpeza e com adequada ventilação, de acordo com as orientações da OECD (1998). Recomendações:

1. Verifique as condições climáticas e outros fatores ambientais antes de conduzir o experimento e evite condições adversas como tempestades, chuvas intensas ou altas temperaturas (BRASIL; IBAMA, 2019);
2. Faça a captura em horários específicos, como no início da manhã ou final da tarde, quando as abelhas estão menos ativas, ou colete as abelhas no dia que antecede os ensaios experimentais, para aclimatação e redução de estresse (PIOVESAN et al., 2020);
3. Selecione o período ideal para a coleta, evite coletas no início da primavera e final do outono, levando em consideração a fisiologia, a fase de vida das abelhas e a disponibilidade de indivíduos adultos e saudáveis (OECD, 1998);
4. Utilize equipamentos de captura específicos, como redes entomológicas (tela em junção com frasco para coleta de abelhas que retornam à colônia), pirâmide (bastante viável para captura de forrageiras ao sair da colônia) (SCHEINER et al., 2013);

5. Para a confecção da pirâmide, utilize material transparente que favoreça a passagem da luz (sugerem-se: altura de 24,5 cm; ápice de 3,5 cm x 3,5 cm; e base de 18 cm x 18 cm) (SCHEINER et al., 2013);
6. Utilize gaiolas experimentais e recipientes de fácil limpeza e com adequada ventilação, como frascos PET de 250 mL, conforme recomendações da OECD (1998);
7. Certifique-se de seguir as normas de segurança e bem-estar animal durante a captura (BRASIL, 1991); e
8. Respeite as leis e regulamentações locais e evite captura excessiva para garantir a preservação das espécies de abelhas (BRASIL; IBAMA, 2019).

5.4 Principais Erros

1. Captura de indivíduos doentes ou debilitados: A verificação da saúde de abelhas é fundamental antes de fazer qualquer tipo de coleta ou manejo em ensaios laboratoriais, pois abelhas debilitadas ou doentes podem apresentar resultados falsos, prejudicando a precisão dos experimentos e a validade dos resultados obtidos (OECD, 2017; JACOB et al., 2019).
2. Manejo inapropriado: O manejo inadequado das abelhas pode prejudicar a precisão dos experimentos laboratoriais, por isso é importante seguir recomendações específicas para o manejo para cada espécie (BECKER et al., 2015; OECD, 2017; FREITAS et al., 2020).
3. Falta de consideração pelas condições climáticas e sazonais: As condições climáticas podem afetar significativamente a captura e o manejo de abelhas (ASSIS et al., 2021).
4. Não relevar o período: Alguns testes com abelhas podem ser afetados se conduzidos durante certos períodos do ano, como no início da primavera e final de outono, pois esses períodos podem afetar a fisiologia das abelhas (OECD, 1998).
5. Falta de planejamento: O planejamento adequado é crucial para a obtenção de resultados precisos e confiáveis na realização de pesquisas (ASKIE; GHERSI; SIMES, 2006).

5.5 Importância dos Meliponários nas Instituições de Ensino

A importância desses espaços nas instituições de ensino é imensurável, pois permite aos estudantes e pesquisadores a oportunidade de estudar as abelhas de perto e compreender melhor suas características e comportamentos (ALBERTO et al., 2012; SILVA; SANTOS; TEIXEIRA, 2021). Além disso, meliponários didáticos são fundamentais para o desenvolvimento de novas técnicas de manejo de abelhas, para a preservação de polinizadores, para a produção de mel e outros produtos derivados dessas espécies (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2010; BENDINI et al., 2020).

5.6 Considerações

Os meliponíneos têm uma importância significativa para a sociedade, desde aspectos econômicos até processos ecossistêmicos (BASRAWI et al., 2017; PEREIRA SILVA; LIMA; PAZ, 2012). É fundamental que antes de qualquer procedimento de captura de abelhas, seja evidenciada a importância de preservar a espécie em questão, garantindo alimentos de qualidade (FLETCHER et al., 2020), manutenção da diversidade de plantas nativas e rendimentos para os meliponicultores, tanto para as populações tradicionais quanto para as pesquisas (EMBRAPA, 2022^a). A manutenção dos serviços dos meliponíneos, tanto os diretos (como mel, colônias e subprodutos) quanto os indiretos (como polinização, educação, turismo e paisagismo), tem se tornado cada vez mais importante (POTTS et al., 2016), especialmente à medida que a comunidade científica tem evidenciado a perda contínua de habitats, manejos inadequados e o crescente número de doenças e pragas que afetam esses polinizadores, seja por fatores causais ou naturais, o que por si só não resolve o problema (VILLAS-BÔAS, 2012).

No entanto, a integração entre a ciência, ações sociais e governamentais e métodos educacionais para o manejo correto pode tornar a convivência entre polinizadores, plantas e seres humanos mais harmônica, proporcionando benefícios mútuos (ROSA et al., 2019). Além disso, há uma necessidade crescente de pesquisas em ecossistemas afetados por atividades antrópicas, com o objetivo de melhorar ou reduzir danos ambientais.

Quanto aos ensaios ecotoxicológicos, a OECD (2022) considera guias técnicos fundamentais para padronizar os testes e identificar e caracterizar potenciais perigos. É importante lembrar que avaliações ecotoxicológicas podem ter implicações legais

(dependendo do país ou região), tornando ainda mais importante que qualquer método de monitoramento seja padronizado e bem conhecido, como o Guia apresentado. Assim, o presente guia é uma ferramenta valiosa para auxiliar os pesquisadores e meliponicultores na captura e manutenção de abelhas nativas, contribuindo para a preservação desses polinizadores e seus ecossistemas.

5.7 Referências

A.B.E.L.H.A. **Manejo produtivo**. Disponível em: <<https://abelha.org.br/manejo-produtivo/>>. Acesso em: 27 jul. 2022b.

A.B.E.L.H.A. **Preciso de autorização para a instalação de ninhos armadilha?** Disponível em: <<https://abelha.org.br/faq/preciso-de-autorizacao-para-a-instalacao-de-ninhos-armadilha/>>. Acesso em: 27 jul. 2022a.

ALBERTO, C. et al. Meliponário Didático Pedagógico. Universidade Estadual de Montes Claros. **Realização**, p. 2011, 2012.

AMA. **Como instalar ISCA PET do jeito certo? 2023**. YouTube. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=A-ypaaLZSN4>. Acesso em: 28 jan. 2023.

ASKIE, L.; GHERSI, D.; SIMES, J. Metodologia da pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de um protocolo de pesquisa. **Australian Journal of Physiotherapy**, v. 52, n. 4, p. 237–239, 2006.

ASSIS, J. C. et al. The influence of climate and seasonality on bee communities: a complementary method for bee sampling in forest patches of an anthropic matrix. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, p. 711–723, 2021.

BASRAWI, F. et al. Engineering economic analysis of meliponiculture in Malaysia considering current market price. **MATEC Web of Conferences**, v. 131, 2017.

BECKER, F. G. et al. Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas – meliponíneos. **Syria Studies**, v. 7, n. 1, p. 37–72, 2015.

BENDINI, N. et al. Meliponário didático: a extensão universitária como uma estratégia para a conservação das abelhas sem ferrão no semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Extensão Universitária**, p. 277–288, 2020.

BRASIL; IBAMA. Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas. **Ibama – MMA**, p. 24, 2019.

BRASIL. RESOLUÇÃO CONAMA nº 346, de 16 de agosto de 2004 Publicada no DOU n. p. 235–236, 2004.

BRASÍLIA. **Lei Federal nº 8.171, de 17 de janeiro de 1991**. Dispõe sobre a política agrícola. Brasília: Casa Civil, [1991]. Disponível em:<

https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/18171.htm#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20pol%C3%ADtica%20agr%C3%ADcola.&text=Art.,das%20atividades%20pesqueira%20e%20florestal.>. Acesso em: 22 nov. 2022.

CAMARGO, A. J. A. et al. Coleções Entomológicas. **Embrapa**, v. 1, n. 1, p. 118, 2015.

CARVALHO-ZILSE, G. A. et al. Apostila – Criação de abelhas sem ferrão. **IBAMA**, p. 1–17, 2005.

CONTRERA, F. A. L.; VENTURIERI, G. C. **Revisão das Interações entre Forídeos (Diptera: Phoridae) e Abelhas Indígenas sem Ferrão (Apidae: Meliponini), e Técnicas de Controle**. Anais do VI Encontro sobre: Abelhas. 2008. Ribeirão Preto – SP, Brasil. **Anais...**2008

EMBRAPA. **ABC de Agricultura Familiar**. V. 3000, n. 61, p. 1–5, 2009.

EMBRAPA. **Alimentação artificial de colônias**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355163/39571288/Alimentacao+artificial+de+colonias.pdf/fa5b5a2f-7efa-bb52-c01b-d312b4f0bad2>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

EMBRAPA. Criação de abelhas-sem-ferrão. **Embrapa**, p. 1–32, 2022b.

EMBRAPA. Doenças e Inimigos Naturais das Abelhas. **Embrapa**, p. 66, 2004.

EMBRAPA. **Polinização na Agricultura**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/meio-ambiente/abelhas-nativas/criacao>>. Acesso em: 27 jul. 2022^a.

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. **Você sabia que existem abelhas nativas, brasileiras, que produzem um saboroso e nutritivo mel?** Disponível em: <https://www.embrapa.br/contando-ciencia/animais-e-criacoes/asset_publisher/jzCoSDOAGLc4/content/abelha-sem-ferrao/1355746?inheritRedirect=false>. Acesso em: 27 jul. 2022.

FLETCHER, M. T. et al. Stingless bee honey, a novel source of trehalulose: a biologically active disaccharide with health benefits. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

FORJAZ, Giulia. [**Abelhas Nativas**]. WhatsApp. 12 set 2022. 10:09. 20 mensagens do Whatsapp.

FRANCISCO, C. F. O. et al. Estrutura genética de *T. angustula*. Sydney, NSW 2006, Austrália Machine Translated by Google. 2006.

FREITAS, P. V. D. X. DE et al. Noções básicas para criação de abelhas nativas: alimentação e multiplicação. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e44942815, 2020.

IBAMA. **Avaliação ambiental para registro de agrotóxicos, seus componentes e afins de uso agrícola**. Disponível em:

<<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/avaliacao-ambiental/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#:~:text=A obrigatoriedade de uma avaliação, exigências relativas ao meio ambiente.>>. Acesso em: 27 jul. 2022.

JACOB, C. R. DE O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 1 jun. 2019.

KALUZA, B. F. et al. Social bees are fitter in more biodiverse environments. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.

LEMANSKI, N. J.; FEFFERMAN, N. H. Coordination between the Sexes Constrains the Optimization of Reproductive Timing in Honey Bee Colonies. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–8, 2017.

MIRANDA, E. A. et al. Phylogeography of *Partamona rustica* (Hymenoptera, Apidae), an endemic stingless bee from the neotropical dry forest diagonal. **PloS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–19, 2016.

MMA. Polinizadores e Pesticidas. **MMA**, p. 112, 2012.

OECD. **Guidelines for Testing of Chemicals Number 214. Honeybees, Acute Oral Toxicity Test**. Disponível em: <<https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/work-related-beepollinators.htm>>. Acesso em: 22 dez. 2022.

OECD. OECD GD 245: Honeybees (*Apis mellifera*), chronic oral toxicity test (10-day feeding). **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, n. October, p. 1–7, 2017.

OLIVEIRA, A. P. M. DE; VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L. Utilização de diferentes vinagres no controle de forídeos parasitas de meliponíneos. **Embrapa**, 2013.

OLIVEIRA, R. C. et al. Como obter enxames de abelhas sem ferrão na natureza? **Mensagem Doce**, v. 100, p. 1–7, 2012.

PEREIRA, F. DE M.; SOUZA, B. DE A.; LOPES, M. T. DO R. Instalação e manejo de meliponário. **Embrapa**, p. 26, 2010.

PIOVESAN, B. et al. Effects of insecticides used in strawberries on stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca fiebrigi* (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 34, p. 42472–42480, 2020.

POTTS, S. G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**, v. 540, n. 7632, p. 220–229, 2016.

ROSA, J. M. et al. Disappearance of pollinating bees in natural and agricultural systems: Is there an explanation? **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 1, p. 154–162, 2019.

SANTOS, A. et al. Criação e Manejo do Meliponário na ETEC Benedito Storani.

ETEC, 2021.

SILVA, F. J. DE A. et al. Comportamento de nidificação de *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. 1 - 15, 2021.

SILVA, W. P.; LIMA, J. R.; PAZ, D. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v. 10, n. 3, p. 146–152, 2012.

SILVA, R. B. V.; SANTOS, F. O.; TEIXEIRA, I. R. DO V. Environmental Education: the importance of Meliponaries in the Academic Environment. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 15781–15792, 2021.

TEIXEIRA, A. F. Agroecological principles applied to stingless bees beekeeping. **Incaper**, v. 1, n. 1990, p. 4, 2013.

UDAYAKUMAR, A.; SHYLESHA, A. N.; SHIVALINGASWAMY, T. M. Coconut shell traps: easiest and economic way to attract stingless bees (*Tetragonula iridipennis*) Smith. **Sociobiology**, v. 68, n. 4, 2021.

VALE, P. et al. Predador de abelhas sem ferrão no Cerrado brasileiro: primeiro registro de Hololepta, *Leionota reichii* Marseul (Coleoptera, Histeridae) em colônia de *Melipona quadrifasciata*. **Tecnia**, v. 4, n. 1, p. 7, 2019.

VILLAS-BÔAS, J. Manual Tecnológico 3: Mel de Abelhas sem Ferrão. **ISPN**, p. 1–98, 2012.

6. ARTIGO ORIGINAL – EXPERIMENTO I

SENSIBILIDADE DE ABELHAS MELIPONINI DO GÊNERO *Tetragonisca* À TOXICIDADE DE IMIDACLOPRIDO

RESUMO

As abelhas nativas são polinizadoras eficazes na Região Neotropical e podem ser bioindicadoras ambientais, pois ajudam a equilibrar as comunidades florais e manter a diversidade em ambientes naturais. Contudo, esses organismos polinizadores têm diminuído pela potencial exposição a agrotóxicos comumente usados no agroecossistema, incluindo os neonicotinoides (NNIs). O Imidacloprido (IMI) tem sido relatado por causar efeitos a polinizadores não alvo, enquanto a comunidade científica tem destacado a necessidade de estudos ecotoxicológicos com abelhas nativas sem ferrão pela falta de informações sobre os efeitos de pesticidas nesses invertebrados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o EAT (Efeito Agudo Tópico) e EAR (Efeito Agudo Residual) de inseticidas à base de IMI nas abelhas sem ferrão *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula* para determinar a CL₁₀ e CL₅₀ sobre os organismos expostos. Nos ensaios de efeito tóxico e residual, *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula* foram expostas em gaiola experimental com capacidade de 250 mL, por 48h (com base na literatura científica). Em ambos os ensaios, foram utilizadas oito concentrações nominais de inseticida à base de IMI [Imidagold 700 WG[®] - 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg/L de ingrediente ativo (i.a.)], mais o tratamento de controle, apenas água destilada, com três repetições por tratamento e 10 organismos por repetição. No ensaio tóxico, *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula* foram expostas às respectivas concentrações através de volume conhecido de névoa contaminada de 350 µL durante 1 min. Para o teste de efeito residual, foram oferecidos às abelhas 2 mL de solução de sacarose contaminada com as respectivas concentrações de IMI. Para EAT, a CL₁₀ e a CL₅₀, após 48h do inseticida à base de IMI sobre as abelhas, foram determinadas, respectivamente, como segue: 39,96 e 610 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; 22,20 e 518,09 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; 8,97 e 85,84 µg i.a./L para *T. angustula*. Por outro lado, CL₁₀ e CL₅₀, após 48h do EAR do inseticida à base de IMI sobre as três espécies de abelhas, são reportadas, respectivamente, como mais tóxicas, em comparação com o EAT, tendo sido aplicados 4,09 e 59,96 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; 3,35 e 98,85 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; 16,05 e 50,30 µg i.a./L para *T. angustula*. Para o EAT e EAR, a espécie que apresentou maior sensibilidade à toxicidade aguda de IMI foi *T. angustula*. Assim, os ensaios com o inseticida padrão de referência Dimetoato (DM) confirmaram maior sensibilidade de *T. angustula* em comparação com as outras duas espécies, uma vez que dados de CL₁₀ e CL₅₀, após 48h, estimaram valores de EAT, respectivamente, de 33,30 e 54,08 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; de 20,20 e 39,56 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; e de 10,83 e 23,09 µg i.a./L para *T. angustula*. Já a CL₁₀ e CL₅₀ de 48h, no EAR foram estimados, respectivamente, 13,83 e 39,07 µg i.a./L para *T. weyrauchi*;

14,02 e 41,95 $\mu\text{g i.a./L}$ para *T. fiebrigi*; e 4,04 e 18,85 $\mu\text{g i.a./L}$ para *T. angustula*. Este estudo agrega importantes informações no âmbito da ecotoxicidade dos NNIs em abelhas sem ferrão, uma vez que baixas concentrações do inseticida à base de IMI afetam a sobrevivência de *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e de *T. angustula*, principalmente quando expostas ao efeito residual.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicologia; organismos não alvo; sobrevivência; efeito tópico; efeito residual

ABSTRACT

Native bees are effective pollinators in the neotropical region and can be environmental bioindicators because they help to balance floral communities and maintain diversity in natural environments. However, these pollinating organisms have declined due to the potential exposure to agrochemicals commonly used in the agroecosystem, such as neonicotinoids (NNIs). The Imidacloprid (IMI) has been reported to cause effects on non-target pollinators, while the scientific community has highlighted the need for ecotoxicological studies with native stingless bees due to the lack of information on the pesticide effects on these invertebrates. Thus, this paper aims to evaluate the Acute Topical Effect (ATE) and Acute Residual Effect (ARE) of IMI-based insecticides on stingless bees, *Tetragonisca weyrauchi*, *Tetragonisca fiebrigi*, and *Tetragonisca angustula*, to determine the LC₁₀ and LC₅₀ on the exposed organisms. In topical and residual effect tests, *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, and *T. angustula* were exposed in an experimental cage with capacity of 250 mL, for 48 h (according to the scientific literature). In both tests, eight nominal concentrations of IMI-based insecticide were used [Imidagold 700 WG[®], 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, and 512 µg/L of active ingredient (a.i.)] and the control treatment (distilled water only) with three replicates per treatment and ten organisms per replicate. In the topical test, *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, and *T. angustula* were exposed to the respective concentrations through a known volume of contaminated mist of 350 µL for 1 min. Bees were fed with 2 mL of sucrose solution contaminated with the respective IMI concentrations for the residual effect test. After 48 h of IMI-based insecticide on the bees, 39.96 and 610 µg a.i./L for *T. weyrauchi*; 22.20 and 518.09 µg a.i./L for *T. fiebrigi*; and 8.97 and 85.84 µg a.i./L for *T. angustula* were determined for ATE, LC₁₀, and LC₅₀. Furthermore, LC₁₀ and LC₅₀ are reported, respectively, as more toxic after 48 h of the ARE of IMI-based insecticide on the three species of bees, compared to the ATE, which are 4.09 µg and 59.96 µg a.i./L for *T. weyrauchi*; 3.35 e 98.85 µg a.i./L for *T. fiebrigi*; and 16.05 e 50.30 µg a.i./L for *T. angustula*. *T. angustula* was the species that showed the greatest sensitivity to the acute toxicity of IMI for the ATE and ARE. Thus, tests with the standard reference insecticide Dimethoate (DM) confirmed greater sensitivity of *T. angustula* compared to the other two species, since, after 48 h, LC₁₀ and LC₅₀ data estimated EAT values, respectively, at 33.30 and 54.08 µg a.i./L for *T. weyrauchi*; 20.20 and 39.56 µg a.i./L for *T. fiebrigi*; and 10.83 and 23.09 µg a.i./L for *T. angustula*. The LC₁₀ and LC₅₀ of 48 h in the ARE were estimated, respectively, at 13.83 and 39.07 µg a.i./L for *T. weyrauchi*; 14.02 and 41.95 µg a.i./L for *T. fiebrigi*; and 4.04 and 18.85 µg a.i./L for *T. angustula*. This study adds important information regarding the ecotoxicity of NNIs on stingless bees, since low concentrations of the IMI-based insecticide affect the survival of *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, and *T. angustula*, mainly when exposed to the residual effect.

KEYWORDS: Ecotoxicology, non-target organisms, residual effect, survival, topical effect.

6.1 Introdução

A agricultura tem se tornado cada vez mais dependente de agrotóxicos para aumentar a produtividade e intensificar a produção (IRAC, 2022). No entanto, o uso excessivo e incorreto desses produtos pode trazer impactos negativos para a biodiversidade e para a saúde humana. Um dos tipos de agrotóxicos que têm recebido atenção crescente são os neonicotinoides (NNIs), considerados a classe mais importante a nível global (MA et al., 2021). Esses produtos foram introduzidos no mercado mundial na década de 1990 (MORRISSEY et al., 2015; TAIRA et al., 2021) e apresentam quatro gerações, sendo que a primeira geração, como o Imidacloprido (IMI), tem apresentado impacto relevante tanto no mercado quanto no ambiente (THOMPSON et al., 2020).

O Imidacloprido, 1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine, tem sido considerado um inseticida imprescindível no controle de insetos-praga que podem causar prejuízos significativos nos cultivos agrícolas em todo o mundo (FU et al., 2022; STINSON et al., 2022). Esse composto atua no sistema nervoso do inseto, mimetiza a ação de Acetilcolina (ACh), causando bloqueio nos neurônios receptores (gera hiperexcitabilidade – constantes contrações musculares), resultando em paralisia e morte (UPL, 2017; MA et al., 2021).

Devido às suas propriedades físico-químicas, como solubilidade e persistência, bem como concentrações ambientais, o IMI é considerado contaminante emergente pela União Europeia (MA et al., 2021), com utilização restrita e estratégias em cultivos de campos abertos (BERNARDES et al., 2022). O IMI é particularmente tóxico para invertebrados (incluindo artrópodes), alguns crustáceos, com menor afinidade para mamíferos (MORRISSEY et al. 2015). No Brasil, o impacto do IMI em abelhas polinizadoras culminou em reavaliação toxicológica (IBAMA, 2021).

As abelhas sem ferrão, do gênero *Tetragonisca* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) (JACOB et al., 2019), apresentam coloração amarela e mesespísteros, que permitem diferenciação a olho nu (COSTA, 2019), pelo que tendem a ser robustas, resistentes ao frio e calor, sendo, portanto, consideradas praticamente de ampla distribuição geográfica. Cabe ressaltar ainda a importância das abelhas nativas, não somente na polinização dos cultivos agrícolas, mas também na manutenção dos agroecossistemas (fator econômico) e para a indústria alimentícia e farmacêutica (efeito

medicinal da substância própolis, pólen e mel) (VOSSLER et al., 2018; CHAM et al., 2019; JACOB et al., 2019).

As abelhas sem ferrão, conhecidas popularmente por jataí, são nativas e pertencentes à tribo dos meliponídeos (Lepelletier, 1836), catalogadas como fauna do Brasil. A espécie *Tetragonisca angustula* tem maior abundância na Região Neotropical (MALAGODI-BRAGA; KLEINERT, 2004; JACOB et al., 2019). No Brasil, *T. angustula* distribui-se no Norte, Nordeste, Sul, Sudeste e Centro Oeste; já as *T. fiebrigi* são mais recorrentes na Região Sul, Sudeste e Centro-Oeste; enquanto as *T. weyrauchi* são usualmente encontradas na Região Norte e Centro-Oeste (BRASIL, 2022).

O IMI apresenta potencial letal para esses organismos, além de comprometer o comportamento e o desenvolvimento, dado o seu modo de ação no sistema nervoso central, ocasiona ainda alterações na morfologia, na integração sensorial e na aprendizagem, a exemplo do que foi reportado em *Melipona quadrifasciata* (MMA, 2012; IBAMA, 2021; BERNARDES et al., 2022). A longo prazo, a toxicidade de IMI em *Osmia lignaria* (abelha nativa) foi reportada por aumentar a competitividade masculina (reduz a qualidade dos espermatozoides), com danos na capacidade locomotora (EUA e Canadá), além de efeitos no comportamento, forrageamento e construção de ninhos (ANDERSON; HARMON-THREATT, 2021).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o EAT e EAR de inseticidas à base de IMI nas abelhas sem ferrão *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula* para determinar a CL₁₀ e a CL₅₀ sobre os organismos expostos.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Cultura de Abelhas

Para os ensaios ecotoxicológicos em laboratório, as abelhas foram previamente capturadas (Apêndice H), com a utilização de ninhos-armadilha (comercializados, bem como iscas caseiras, em garrafas de Polietileno Tereftalato – PET ou embalagem Tetra Pak) e de caixa isca (madeira ou papelão, com cera alveolada e própolis).

As abelhas foram transferidas e ambientadas (período para estabilização e aumento populacional) no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IF Goiano) – Campus Rio Verde. Posteriormente, foram alocadas em casas de madeira, bem como caixas de eucalipto rosa, impermeabilizadas com cera alveolada.

Frequentemente os suportes das casas e caixas eram monitorados e envolvidos com anel de graxa para controle e combate de inimigos naturais (EMATER, 2021).

As abelhas operárias foram coletadas diretamente da entrada do ninho de três colônias saudáveis (JACOB et al., 2019) de cada espécie, com efetiva padronização (EPPO, 2010). A identificação foi feita previamente com base na coloração do mesepisterno (COSTA, 2019). Posteriormente, elas foram acondicionadas em caixa entomológica e, em seguida, encaminhadas para análise especializada no departamento de Zoologia da Universidade de Brasília (UnB), mantidas em coleção biológica de referência. O material foi etiquetado e tombado como *T. angustula*, *T. fiebrigi* e *T. weyrauchi*. Preliminarmente, os seguintes registros foram apresentados: UnB205428 e UnB205436.

6.2.2 Aquisição dos Inseticidas

A escolha do inseticida à base de IMI foi feita a partir de levantamento prévio em estabelecimentos credenciados para comercialização de agrotóxicos no Sudeste Goiano, de modo que o composto de considerável representatividade (maior número de aplicações e culturas utilizadas) foi determinado para utilização nos ensaios ecotoxicológicos. Após levantamento, foi determinado que o Imidagold 700 WG® (Imidacloprido 70%, granulado dispersível, UPL do Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agropecuários S. A., Ituverava, SP, Brasil) apresentou relevante utilização.

Para controle positivo em ensaios com *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula*, foi utilizado o Agritoato 400, ingrediente ativo Dimetoato (O,O-dimetil S-metilcarbamoilmetil fosforoditioat – 40%), o qual foi adquirido por doação da Sumito Chemical Brasil. O referido inseticida é usual padrão de referência para testes ecotoxicológicos com abelhas (OECD, 1998).

6.2.3 Ensaios de Toxicidade Aguda

Os ensaios experimentais ocorreram no laboratório de Águas e Efluentes (Sala de Bioensaios) do IF Goiano – Campus Rio Verde. Para o teste de toxicidade aguda, 270 exemplares de *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula*, foram expostos ao efeito tóxico e residual, em gaiolas de plástico (250 mL), forradas com papel de filtro comercial (80g qualitativo 70mm – Unifil), mais alimentador/bebedouro (tubos de microcentrífuga transparentes, com capacidade de 2 mL) contendo algodão (a fim de

prevenir mortes por afogamento), ao passo que o número de abelhas vivas e mortas foi registrado ao fim de 48h (OECD, 1998) (Anexo C). Também, para EAT e EAR, as abelhas foram consideradas mortas quando não reagiram a estímulos (JACOB et al., 2019).

Em ambos os ensaios, EAT e EAR, para cada espécie de abelha, Apêndice C, foram utilizadas oito concentrações nominais de inseticida à base de IMI (Imidagold 700 WG® - 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg i.a./L), mais o tratamento controle, apenas água destilada, com três repetições por tratamento e 10 organismos por repetição (OECD, 1998). Do mesmo modo, ensaios de EAT e EAR foram conduzidos para avaliação da toxicidade letal do inseticida padrão de referência, utilizando oito concentrações nominais de inseticida à base de DM (4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg i.a./L), mais o tratamento controle, apenas água destilada, com três repetições por tratamento e 10 organismos por repetição (OECD, 1998).

Para EAT (Apêndice G), *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula* foram expostas a um volume conhecido de névoa contaminada (350 µL – gama encontrada no ambiente e pólen) (ASSIS et al., 2022), durante 1 min, tendo o ensaio sido acompanhado por 48h. Em EAR, que se refere à susceptibilidade oral, os organismos foram privados de alimentação durante os 30 min que antecediam o ensaio experimental. A dieta foi então contaminada com concentração adequada (2 mL de xarope) e fornecida às abelhas em comedouro (tubo transparente de microcentrífuga com capacidade de 2 mL), forrado de algodão para evitar afogamento.

6.2.4 Análise Estatística dos Dados

As CL₁₀ e CL₅₀ de IMI e DM sobre *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula* (EAR e EAT) foram estimadas por análise de Probit, com utilização do software estatístico Minitab 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

6.3 Resultados

Para EAT (Tabela 1; Figuras 1 a, b, c), a CL_{10-48h} e a CL_{50-48h} do inseticida à base de IMI sobre as abelhas foram determinadas, respectivamente, como segue: 39,96 e 610 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; 22,20 e 518,09 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; e 8,97 e 85,84 µg i.a./L para *T. angustula*. Por outro lado, CL_{10-48h} e CL_{50-48h} EAR (Tabela 2, Figuras 2 a,b, c) do inseticida à base de IMI sobre as três espécies de abelhas são

reportadas, respectivamente, como mais tóxicas, em comparação com o EAT, a saber: 4,09 e 59,96 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; 3,35 e 98,85 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; e 16,05 e 50,30 µg i.a./L para *T. angustula*. A mortalidade no controle não excedeu 10%, limite de normalidade, de acordo com as diretrizes 213 e 214 da OCDE. Durante a exposição não houve recusa alimentar.

Tabela 1 - Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Imidacloprido sobre abelhas do gênero *Tetragonisca*.

Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30) versus Concentrações				
Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada (µg i.a./L)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
<i>Tetragonisca weyrauchi</i>				
10	39,96	11,48	19,00	64,75
50	610,00	230,45	337,10	1735
<i>Tetragonisca fiebrigi</i>				
10	22,20	7,53	9,00	38,59
50	518,09	205,21	277,43	1540,55
<i>Tetragonisca angustula</i>				
10	8,97	2,55	4,47	14,40
50	85,84	14,55	62,06	123,03

Tabela 2 - Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Imidacloprido sobre abelhas do gênero *Tetragonisca*.

Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30) versus Concentrações				
Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada (µg i.a./L)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
<i>Tetragonisca weyrauchi</i>				
10	4,09	1,29	1,72	6,79
50	59,92	20,55	34,89	155,98
<i>Tetragonisca fiebrigi</i>				
10	3,35	1,29	1,18	6,19
50	98,85	37,62	53,80	276,71
<i>Tetragonisca angustula</i>				
10	16,05	2,49	11,16	20,98
50	50,30	5,47	40,70	62,90

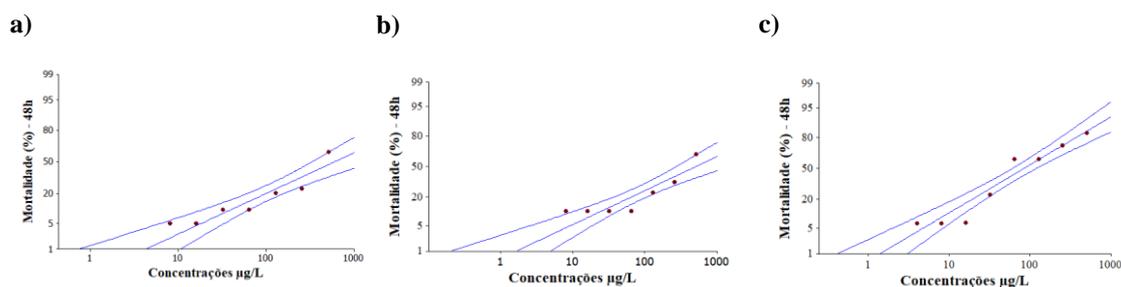


Figura 1 - Mortalidade de abelhas do gênero *Tetragonisca* expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Imidacloprido – a) *T. weyrauchi*; b) *T. fiebrigi*; c) *T. angustula*. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30).

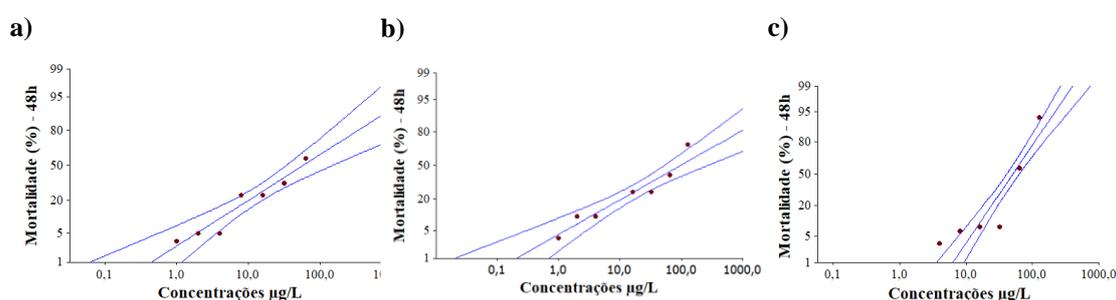


Figura 2 - Mortalidade de abelhas do gênero *Tetragonisca* expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Imidacloprido – a) *T. weyrauchi*; b) *T. fiebrigi*; c) *T. angustula*. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30).

Para EAT e EAR, *T. angustula* foi a espécie mais sensível à toxicidade aguda do IMI. Nesse contexto, testes utilizando o inseticida padrão de referência DM confirmaram a maior sensibilidade de *T. angustula* em relação às outras duas espécies, vez que dados de CL_{10-48h} e CL_{50-48h} EAT (Tabela 3; Figura 3 a,b,c) foram estimados, respectivamente, como 33,30 e 54,08 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; 20,20 e 39,56 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; 10,83 e 23,09 µg i.a./L para *T. angustula*. Já a CL_{10-48h} e CL_{50-48h} EAR (Tabela 4; Figura 4 a, b, c) foram estimados, respectivamente, 13,83 e 39,07 µg i.a./L para *T. weyrauchi*; 14,02 e 41,95 µg i.a./L para *T. fiebrigi*; e 4,04 e 18,85 µg i.a./L para *T. angustula*. A mortalidade no controle não excedeu 10%. Durante a exposição não houve recusa alimentar.

Tabela 3 - Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Dimetoato sobre abelhas do gênero *Tetragonisca*.

Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30) versus Concentrações

Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
-----------------------------	-----------------------	-------------	-----------------	-----------------

(µg i.a./L)				
<i>Tetragonisca weyrauchi</i>				
10	33,30	3,51	25,05	39,43
50	54,08	3,75	46,91	62,57
<i>Tetragonisca fiebrigi</i>				
10	20,20	2,34	15,20	24,56
50	39,56	3,32	33,52	47,15
<i>Tetragonisca angustula</i>				
10	10,83	1,39	7,88	13,42
50	23,09	2,01	19,40	27,65

Tabela 4 - Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Dimetoato sobre abelhas do gênero *Tetragonisca*.

Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30) versus Concentrações

Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada (µg i.a./L)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
<i>Tetragonisca weyrauchi</i>				
10	13,83	2,10	9,62	17,91
50	39,07	3,99	31,88	48,11
<i>Tetragonisca fiebrigi</i>				
10	14,02	2,13	9,81	18,22
50	41,95	4,46	34,02	52,13
<i>Tetragonisca angustula</i>				
10	4,04	0,92	2,31	5,92
50	18,85	2,43	14,44	24,29

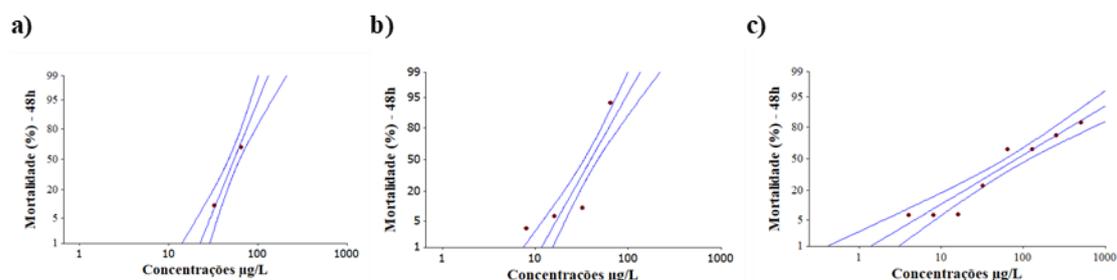


Figura 3 - Mortalidade de abelhas do gênero *Tetragonisca* expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Dimetoato – a) *T. weyrauchi*; b) *T. fiebrigi*; c) *T. angustula*. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30).

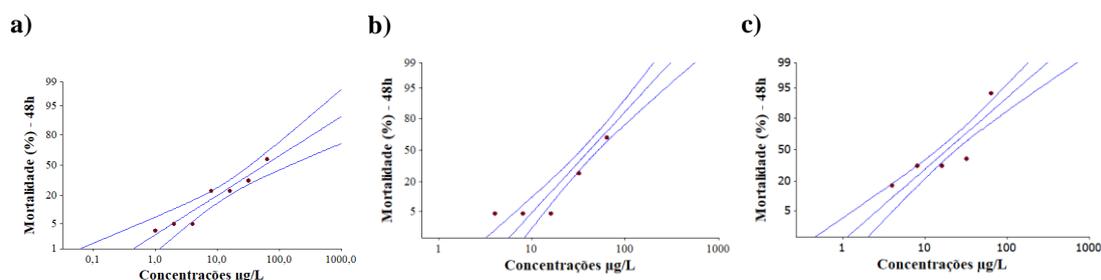


Figura 4 - Mortalidade de abelhas do gênero *Tetragonisca* expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Dimetoato – a) *T. weyrauchi*; b) *T. fiebrigi*; c) *T. angustula*. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30).

6.4 Discussão

Nossos dados evidenciaram elevada toxicidade de IMI sobre as três espécies de abelha do gênero *Tetragonisca*. Foram observadas mortalidades em concentrações já reportadas nos ambientes, tais em sementes e colheitas (1 a 51 µg/L e 61 a 127 µg/L de IMI, respectivamente) (TASMAN et al., 2021), bem como no solo (903,31 µg/kg) (BONMATIN et al., 2021) e na água (11,9 µg/L) (PIETRZAK et al., 2019).

Estudos relatando a sensibilidade de abelhas nativas a agrotóxicos, a exemplo de *T. weyrauchi*, uma espécie restrita a determinadas regiões geográficas e com hábito de nidificação diferente das outras duas espécies, ainda são escassos na literatura científica (CORTOPASSI-LAURINO; NOGUEIRA-NETO, 2003). Em estudo conduzido pelo Ibama (2022), a conclusão de risco do IMI que se estende a essas abelhas polinizadoras nativas se dá mediante fator 10 de segurança, divisibilidade para se considerar uma maior “sensibilidade” na ausência de estudos específicos para esses organismos. Sabe-se que as abelhas sem ferrão tendem a ser mais sensíveis aos pesticidas em comparação com as *Apis*, abelhas com ferrão, mais resistentes às mudanças e às alterações climáticas (CHAM et al., 2019; BERNARDES et al., 2022).

Diante da limitação de dados ecotoxicológicos para com organismos nativos, o presente estudo evidencia EAT do IMI para *T. angustula* < *T. fiebrigi* < *T. weyrauchi*, na devida ordem de sensibilidade. Por outro lado, o EAR de IMI seguiu a ordem de sensibilidade como segue: *T. angustula* < *T. weyrauchi* < *T. fiebrigi*. A mesma tendência no âmbito da sensibilidade das espécies em estudo ocorreu quando foram expostas ao DM, o que valida nossos dados. É de amplo conhecimento que o DM é usual padrão de referência (ou padrão tóxico) para estudos ecotoxicológicos com

abelhas, dadas sua letalidade e proibição em diversos países. No entanto, outros padrões têm aceitabilidade, quando da presença de dados da resposta a uma dose (OECD, 1998), mas não restritivo. Deste modo, o presente estudo permitiu comparar a toxicidade do IMI com o DM, vez que foram utilizadas a mesma gama de concentrações nominais. Ambos os compostos foram mais tóxicos para as três espécies de abelhas no efeito residual, em comparação com maior toxicidade para o DM a baixas concentrações.

Entre os escassos estudos de NNIs com abelhas do gênero *Tetragonisca*, Jacob et al. (2019) reportaram alta toxicidade de IMI e DM para *T. angustula* com CL_{50-24h} de 1,70 ng i.a./ μ L (altamente tóxico a baixas concentrações, danos no comportamento, inferindo impactos nas funções motoras) e 7,81 ng i.a./ μ L, respectivamente. É de se considerar que o composto comercial utilizado pelos autores foi o Provado[®], ao passo que é conhecido que diferentes formulações comerciais de pesticidas, embora com mesmo ingrediente ativo, podem ocasionar maior ou menor toxicidade em razão dos ingredientes inertes de cada composto (PUGLIS; BOONE, 2011; COSSI et al., 2020), o que evidencia a necessidade de estudos que avaliem diferentes formulações comerciais de IMI e seus efeitos sobre diferentes espécies de abelhas nativas. Além disso, como não há protocolos padrão para ensaios ecotoxicológicos com abelhas nativas, as metodologias de exposição acabam por diferir, seja no tempo, seja no método.

Outra observação, parte do relato de Melo et al. (2022), reconhecendo que embora a resistência dos insetos aos inseticidas seja afamada, pouca informação está disponível sobre a sensibilidade intergeracional. Nessa perspectiva, a massiva e periódica aplicação de IMI poderia ocasionar aumento da sensibilidade de organismos não alvo, como abelhas. Estudo de Van Gestel et al. (2017) em *Folsomia candida* ao longo de três gerações mostrou redução da CL_{50} de IMI (declínio de 0,44 mg/kw de solo seco para 0,21 mg/kw de solo seco na geração F2).

O IMI como agonista nos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR), ao atuar no sistema nervoso central dos insetos, imitando a ação da ACh nas transmissões sinápticas, induz danos nos sistemas sensorial e motor (BERNARDES et al., 2022). Vale lembrar que, nos insetos, os nAChRs atuam como agonistas parciais ou superagonísticos do neurotransmissor ACh. E os NNIs de primeira geração, como IMI, têm ligação de superagonistas, que se ligam aos nAChRs dos insetos. Zhang et al. (2018) e Melo et al. (2022) relataram que as diferenças de sensibilidade ou resistência entre espécies são justificadas pela afinidade agonista da substância ativa aos nAChRs. A ação agonista possivelmente está correlacionada com o efeito do inseticida (tipo e

ingrediente), variando de parcial a total (baixa eficácia do IMI, porém alta toxicidade) (MMA, 2012). Não sendo seletivo, os efeitos do IMI são estendidos a organismos não alvo, vertebrados, invertebrados e até mamíferos (IBAMA, 2019; CAMPBELL et al., 2021; ZHANG et al., 2022; CARNEIRO et al., 2022). Portanto, a dinâmica populacional de *T. weyrauchi*, *T. fiebrigi* e *T. angustula*, pode ser afetada pelo IMI.

O atual estudo do Ibama (2021) sobre reavaliação do risco ambiental de IMI (de *Apis mellifera*) demonstrou toxicidade associada em abelhas, mas este procedimento de reavaliação não foi concluído pela necessidade de exclusão (Parecer Técnico Final). Em referida reavaliação, Claudianos et al. (2006) perceberam sensibilidade de abelhas ante a ausência de genes para desintoxicação. A ordem Hymenoptera, em geral, pode ser considerada particularmente vulnerável aos efeitos de pesticidas porque seus genomas contêm poucos genes que codificam enzimas de detoxificação de xenobióticos. Ensaio de laboratório e de campo com *Bombus terrestris* em concentrações realistas mostraram redução no crescimento e produção de 85% das abelhas rainhas (WHITEHORN et al., 2012), indicando toxicidade significativa, reforçando os dados desse estudo.

Embora o IMI tenha sido estrategicamente desenvolvido com ação de contato (com o corpo do inseto) e ingestão (quando aplicado sobre a planta, vez que é sistematicamente absorvido e se espalha ao longo de folhas, caules, raízes e sementes) (SC, 2020), nossa pesquisa sugere que essas abelhas nativas sejam mais sensíveis à ingestão de alimento contaminado, quando em comparação ao efeito de contato (névoa contaminada). Em resumo, estudos de EAT e EAR com abelhas nativas de 3 diferentes espécies, de acordo com os dados de CL₁₀ e CL₅₀, denotam a relevância da nossa pesquisa, uma vez que possivelmente contribuirão com a ecotoxicologia e com a conservação das espécies de abelhas Meliponini, com vistas ao conhecimento de concentrações tóxicas e não tóxicas à sobrevivência e ao desenvolvimento destes organismos polinizadores.

No entanto, sugerem-se estudos complementares visando a verificar a sobrevivência, comportamento, genotoxicidade, mutagenicidade, parâmetros fisiológicos e bioquímicos de pesticidas em abelhas polinizadoras nativas. Investigações científicas a nível individual, população ou de ecossistema, são ferramentas fundamentais à ecotoxicologia para o diagnóstico, o monitoramento e a prospecção de impacto ambiental.

6.5 Referências

ANDERSON, N. L.; HARMON-THREATT, A. N. Chronic contact with imidacloprid during development may decrease female solitary bee foraging ability and increase male competitive ability for mates. **Chemosphere**, v. 283, 1 nov. 2021.

ASSIS, J. C. et al. Are native bees in Brazil at risk from the exposure to the neonicotinoid imidacloprid? **Environmental Research**, v. 212, n. March, 2022.

BERNARDES, R. C. et al. Toxicological assessment of agrochemicals in bees using machine learning tools. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, p. 127344, fev. 2022.

BONMATIN, J. M. et al. Residues of neonicotinoids in soil, water and people's hair: A case study from three agricultural regions of the Philippines. **Science of the Total Environment**, v. 757, p. 143822, 2021.

BRASIL. **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do>>. Acesso em: 10 out. 2022.

CAMPBELL, K. S. et al. Detection of imidacloprid and metabolites in Northern Leopard frog (*Rana pipiens*) brains. **Science of The Total Environment**, v. 813, p. 152424, 2021.

CARNEIRO, L. S. et al. Acute oral exposure to imidacloprid induces apoptosis and autophagy in the midgut of honeybee *Apis mellifera* workers. **Science of The Total Environment**, v. 815, p. 152847, 2022.

CHAM, K. O. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 1, p. 36–48, 2019.

CLAUDIANOS, C. et al. A Deficit of Detoxification Enzymes: Pesticide Sensitivity and Environmental Response in the Honeybee. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n. 5, p. 36–615, 2006.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P. Notas sobre a bionomia de *Tetragonisca weyrauchi* (Schwarz, 1943) (Apidae, Meliponini). **Acta Amazônica**, v. 33, n. 4, p. 643 – 650, 2003.

COSSI, P. F. et al. Toxicity evaluation of the active ingredient acetamiprid and a commercial formulation (Assail® 70) on the non-target gastropod *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 192, n. October 2019, p. 110248, 2020.

COSTA, L. **Identificação de abelhas sem ferrão, para resgate em áreas de supressão florestal (ITV)**. Belém: Instituto Tecnológico Vale, 2019.

EMATER. **Manual da Atividade Apícola**. Disponível em: <<https://www.emater.mg.gov.br/download.do?id=47194>>. Acesso em: 2 jan. 2022.

- EPPO. Side-effects on honeybees. **EPPO Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 313–319, 2010.
- FU, Z. et al. Impact of imidacloprid exposure on the biochemical responses, transcriptome, gut microbiota and growth performance of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, n. PB, p. 127513, 2022.
- IBAMA. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo Imidacloprido para insetos polinizadores. **IBAMA**, p. 298, 2019.
- IBAMA. **Reavaliação Ambiental**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/reavaliacao-ambiental#>>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- IRAC. **A global response to global problem**. Disponível em: <<https://irac-online.org/>>. Acesso em: 11 nov. 2022.
- JACOB, C. R. DE O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 1 jun. 2019.
- MA, Y. et al. A novel, efficient and sustainable magnetic sludge biochar modified by graphene oxide for environmental concentration imidacloprid removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, n. December 2020, 2021.
- MALAGODI-BRAGA; K. S.; KLEINERT, A. DE M. P. Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? **Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses?** v. 55, n. 7, p. 771–773, 2004.
- MELO, B. S. et al. The multigenerational effects of clothianidin on *Chironomus xanthus*: Larvae exposed to this acetylcholine super agonist show no clear resistance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 245, n. September, p. 1–8, 2022.
- MMA. Polinizadores e Pesticidas. **MMA**, p. 112, 2012.
- MORRISSEY, C. A. et al. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. **Environment International**, 1 jan. 2015.
- OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test. **OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS**, p. 7, 1998.
- PIETRZAK, D. et al. Pesticides from the EU First and Second Watch Lists in the water Environment. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 47, p. 1–13, 2019.
- PUGLIS, H. J.; BOONE, M. D. Effects of technical-grade active ingredient vs. commercial formulation of seven pesticides in the presence or absence of UV radiation on survival of green frog tadpoles. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 1, p. 145–155, 2011.

STINSON, S. A. et al. Agricultural surface water, imidacloprid, and chlorantraniliprole result in altered gene expression and receptor activation in *Pimephales promelas*. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150920, 2022.

SUMITOMO CHEMICAL, S. Imidacloprid Nufarm 700 WG. 2020.

TAIRA, K. et al. Urinary concentrations of neonicotinoid insecticides were related to renal tubular dysfunction and neuropsychological complaints in Dry-zone of Sri Lanka. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

TASMAN, K. et al. Neonicotinoids disrupt memory, circadian behaviour and sleep. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2021.

THOMPSON, D. A. et al. A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: Current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 22, n. 6, p. 1315–1346, 2020.

UPL. **Imidagold 700 wg.** Disponível em: <https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/imidagold700wg150218.pdf>. Acesso em: 20 out. 2022.

VAN GESTEL, C. A. M. et al. Multigeneration toxicity of imidacloprid and thiacloprid to *Folsomia candida*. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 3, p. 320–328, 2017.

VOSSLER, F. G. et al. Stingless Bees as Potential Pollinators in Agroecosystems in Argentina: Inferences from Pot-Pollen Studies in Natural Environments. **Springer, Cham**, p. 155–175, 2018.

WHITEHORN, P. R. et al. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 351–352, 2012.

ZHANG, H. et al. Exposure to neonicotinoid insecticides and their characteristic metabolites: Association with human liver cancer. **Environmental Research**, v. 208, n. January, p. 112703, 2022.

7. ARTIGO ORIGINAL – EXPERIMENTO II

BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE IMIDACLOPRIDO AFETAM A SOBREVIVÊNCIA DE *Tetragona clavipes* NUM CURTO PERÍODO DE EXPOSIÇÃO (24H)

RESUMO

Embora os pesticidas neonicotinóides (NNIs) sejam reportados como essenciais para o controle de insetos-praga no âmbito da produção agrícola e pecuária, estudos relataram efeitos negativos sobre abelhas, principalmente *Apis mellifera*, enquanto outras espécies de abelhas ainda são pouco investigadas. Nesse sentido, o objetivo deste estudo é fornecer informações sobre os riscos associados à sobrevivência de abelhas nativa expostas a baixas concentrações de Imidacloprido (IMI - Imidagold 700 WG). Para ensaios de efeito agudo tóxico e efeito agudo residual (EAT - contato e EAR - ingestão), a espécie *Tetragona clavipes* foi submetida a alimento ou névoa contaminada pelo período de 24 horas. No EAT e EAR, foram utilizadas oito concentrações nominais de inseticida à base de IMI [Imidagold 700 WG[®] - 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg/L de ingrediente ativo (ia)], mais o tratamento controle (água destilada), em triplicada e com dez abelhas em cada unidade experimental (gaiola PET 250 mL – forrada com papel filtro). No teste de efeito tóxico, *T. clavipes* foi exposta às respectivas concentrações, através de volume conhecido de névoa contaminada (350 µL durante 1 min). Com relação ao efeito residual, alimentos contaminados (2 mL de solução de sacarose), foram ofertados às abelhas. A CL_{10-24h}, CL_{50-24h}, CL_{90-24h} em EAT do inseticida à base de IMI frente às abelhas foram determinadas, respectivamente, como segue: 1.58, 45.20 e 1290.21 µg i.a./L. Por outro lado, as CL_{10-24h}, CL_{50-24h}, CL_{90-24h}, EAR do inseticida à base de IMI, foram reportadas, respectivamente, como mais tóxicas, em comparação ao EAT, ou seja, 0.18, 15.26 e 1264.19 µg i.a./L. As informações aqui obtidas são essenciais para a promoção da sustentabilidade, segurança alimentar e preservação do ecossistema. Isso porque baixos níveis de IMI afetam a sobrevivência das abelhas investigadas, implicando danos irreversíveis em menos de 24 horas.

PALAVRAS-CHAVE: Polinizadores, abelhas, neonicotinóides, ecotoxicologia, efeito agudo

ABSTRACT

Studies have reported negative effects on bees, mainly *Apis mellifera*, whereas other bee species are still poorly investigated, although neonicotinoid (NNIs) agrochemicals are reported as essential for insect pest control in agricultural and livestock yield. In this sense, this study aims to provide information on the risks associated with the survival of native bees exposed to Imidacloprid (IMI - Imidagold 700 WG[®]) low concentrations. For acute topical effect (ATE) and acute residual effect (ARE) (ATE, contact; ARE, ingestion) tests, the *Tetragona clavipes* species was subjected to contaminated bee food or contaminated mist for 2 h. In the ATE and ARE, eight nominal concentrations of IMI-based insecticide [Imidagold 700 WG[®], 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, and 512 µg/L of active ingredient (a.i.)] were used plus the control treatment (distilled water) in triplicate with ten bees in each experimental unit (250 mL PET cage, lined with filter paper). *T. clavipes* was exposed to the respective concentrations through a known volume of contaminated mist (350 µL for 1 min) for the topical effect test. Contaminated bee food (2 mL of sucrose solution) was offered to the bees for the residual effect. The LC_{10-24h}, LC_{50-24h}, LC_{90-24h} in ATE of the IMI-based insecticide against bees were determined, respectively, as 1.58, 45.20 and 1290.21 µg a.i./L. On the other hand, the LC_{10-24h}, LC_{50-24h}, LC_{90-24h}, and ARE of the IMI-based insecticide were reported, respectively, as more toxic compared to the ATE, that is, 0.18, 15.26, and 1264.19 µg a.i./L. The information acquired here is essential for promoting sustainability, food safety, and preserving the ecosystem, because low levels of IMI affect the investigated bee survival, involving irreversible damage in less than 24 h.

KEYWORDS: Acute topical effect, bees, ecotoxicology, neonicotinoids, pollinators.

7.1 Introdução

Tetragona clavipes (Fabricius, 1804) é uma abelha sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), nativa da América do Sul, pertencente à tribo Meliponini, considerada a mais importante do continente americano tropical (RS DUARTE; SOARES, 2016). Considerada como social, *T. clavipes* é popularmente conhecida como “Borá”, “Vorá” e “Jataizão” (BECKER et al., 2015). No Brasil, tem ampla distribuição geográfica (RODRIGUES et al., 2007). O grupo do qual faz parte tem como característica operárias com cerdas alongadas e asas hialinas, sendo composto por mais quatro espécies: *Tetragona perangulata* (Cockerell, 1917), *Tetragona quadrangula* (Lepeletier, 1936), *Tetragona mourei* sp. novembro e *Tetragona korotaii* sp. novembro (NOGUEIRA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2022). As abelhas do gênero *Tetragona* são responsáveis por até 90% da polinização de árvores nativas (RODRIGUES et al., 2007).

A polinização é um dos processos mais importantes proporcionados pela biogeocenose (PONCIANO; MAY, 2021), imprescindível para a reprodução sexuada das plantas (VILLAS-BÔAS, 2018). Por isso, é considerado um serviço importante (BUCHMANN; NABHAN, 1996; EMBRAPA, 2022) e, em casos extremos, um declínio pode levar à extinção de plantas e animais, causando alterações nas funções da paisagem e do ecossistema (KEVAN; VIANA, 2003). Das cerca de 250.000 espécies de angiospermas modernas, cerca de 90% são polinizadas por animais, principalmente insetos (COSTANZA et al., 1996, KEARNS; INOUE; WASER, 1998). Este é o resultado de uma relação baseada na troca de recompensas entre angiospermas e visitantes florais (RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, 1991).

Mais de 1.200 espécies de vertebrados (BUCHMANN; NABHAN, 1996) e cerca de 100.000 espécies de invertebrados polinizadores, principalmente insetos, estão envolvidos nesse processo (ROUBIK, 1989). Na maioria dos ecossistemas do mundo, as abelhas são os organismos polinizadores (BIESMEIJER; SLAA, 2007). Em 2006, a América do Norte foi marcada por um traumático evento. Com base em relatórios de apicultores comerciais dos Estados Unidos, foram descritas alarmantes perdas de colônias de abelhas (NIÑO, 2022). De 1985 a 2007, pesquisadores presenciaram o mesmo fenômeno em 18 países europeus (Áustria, Bélgica, República Checa, Dinamarca, Inglaterra, Finlândia, Luxemburgo, Países Baixos, Noruega, Polónia, Portugal, Escócia, Eslováquia, Suécia, Grécia, Itália, País de Gales e Alemanha) (POTTS et al., 2010). Esse fenômeno é definido como o Transtorno do Colapso de

Colônias (CCD), sendo caracterizado pela perda rápida e inexplicável de adultos no ninho (VAN ENGELSDORP et al., 2008; RATNIEKS; CARRECK, 2010; US-EPA, 2022). Segundo Chauzat et al. (2009), o uso indiscriminado de agrotóxicos na agricultura está diretamente vinculado a este fenômeno. A utilização anual de agrotóxicos no Brasil é superior a 300 mil toneladas de produtos industrializados, expressos em ingredientes ativos, representando mais de 130 mil toneladas de uso anual (SPADOTTO; GOMES, 2022).

Diversos estudos evidenciam que o inseticida à base de Imidacloprido (IMI), em decorrência de sua ação extremamente tóxica, está mundialmente vinculado ao desaparecimento de colônias de abelhas (NIÑO, 2022). Assis et al. (2022) observaram que os neonicotinoides (NNIs), à base de IMI, apresentam risco para mais de 50% das espécies de abelhas não *Apis*. Segundo Jacob et al. (2019), o IMI apresenta alta toxicidade aguda oral para abelhas nativas e redução da atividade locomotora. Outro distúrbio causado pela contaminação por agrotóxicos da classe dos NNIs ocorre durante a entrada da abelha na colméia, quando as abelhas podem ser atacadas e rejeitadas pelas abelhas guardiãs (JOHANSEN; MAYER; JOHANSEN, 1990).

Além de efeitos letais e subletais, os agrotóxicos, principalmente os de efeito neurotóxico, potencializam o efeito dos herbicidas, reduzindo o número de flores silvestres, afetando áreas de nidificação, destruindo massivamente os habitats naturais das abelhas (OSBORNE; WILLIAMS; CORBET, 1991; KLEIN et al., 2020; MELO et al., 2022). Neste sentido, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a toxicidade aguda tóxica e residual de Imidagold 700 WG[®] sobre a abelha nativa *T. clavipes* ao fim de 24h de exposição.

7.2 Material e Métodos

7.2.1 Cultura de Abelhas

Para execução dos ensaios ecotoxicológicos em laboratório, as abelhas foram coletadas *in loco*, transferidas e ambientadas no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus de Campus Belos.

As operárias foram coletadas diretamente da entrada do ninho de três colônias saudáveis (JACOB et al., 2019), com efetiva padronização (EPPO, 2010). A identificação foi feita por especialista do Departamento de Zoologia da Universidade de Brasília - UnB.

7.2.2 Aquisição dos Inseticidas

Mediante levantamento prévio, determinou-se que o Imidagold 700 WG[®] (70% de Imidacloprido, granulado, UPL do Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agropecuários S.A., Ituverava, SP, Brasil) denotou relevante utilização no Sudoeste Goiano. Com relação ao padrão de referência, para ensaios com *T. clavipes*, foi utilizado o Agritoato 400, ingrediente ativo Dimetoato (O,O-dimetil S-metilcarbamoilmetilfosforoditioato – 40%), recebido por doação da Sumito Chemical do Brasil. Este pesticida é um padrão de referência usualmente utilizado em testes ecotoxicológicos com abelhas (OCDE, 1998).

7.2.3 Ensaios de Toxicidade Aguda

Todos os ensaios foram conduzidos nos laboratórios do IF Goiano - Campus Campos Belos, no Laboratório de Agroecossistemas e Sala de Ensaios Ecotoxicológicos.

Para avaliação da toxicidade aguda, exemplares de *T. clavipes* foram acondicionados em gaiolas experimentais (250 mL) forradas com papel de filtro (80g qualitativo 70mm - Unifil), acopladas a alimentadores/bebedouros (tubos de microcentrífuga transparentes, com capacidade de 2 mL) contendo algodão (a fim de prevenir mortes por afogamento), tendo o número de abelhas vivas e mortas sido registrado ao fim de 24h (OECD, 1998). Também, para EAT e EAR, as abelhas foram consideradas mortas quando não reagiram a estímulos (JACOB et al., 2019).

Em ambos os ensaios, EAT e EAR, para cada espécie de abelha, Apêndice C, foram utilizadas oito concentrações nominais de inseticida à base de IMI (Imidagold 700 WG[®] - 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg i.a./L), mais o tratamento controle, apenas água destilada, com três repetições por tratamento e 10 organismos por repetição (OECD, 1998). Do mesmo modo, ensaios de EAT e EAR foram conduzidos para avaliação da toxicidade letal do inseticida padrão de referência Dimetoato, utilizando oito concentrações nominais de inseticida à base de DM (Agritoato 400 - 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 µg i.a./L), mais o tratamento controle, água destilada, com três repetições por tratamento e 10 organismos por repetição (OECD, 1998).

Para EAT (Apêndice G), exemplares *T. clavipes* foram expostos a um volume conhecido de névoa de 350 µL (ASSIS et al., 2022), durante 1 min, e o ensaio foi acompanhado por 24h. Em EAR, que se refere à susceptibilidade oral, os organismos

foram privados de alimentação durante os 30 min que antecediam o ensaio experimental. Após o período de ambientação, o alimento a ser ofertado (2 mL de xarope) foi contaminado com as respectivas concentrações e, em seguida, oferecido às abelhas.

7.2.4 Análise Estatística dos Dados

As CL_{10-24h} , CL_{50-24h} e CL_{90-24h} de IMI e DM sobre *T. clavipes* (EAR e EAT) foram estimadas por análise de Probit, com utilização do software estatístico Minitab 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

7.3 Resultados

Para EAT (Tabela 1; Figura 1 a e b), as CL_{10-24h} , CL_{50-24h} e CL_{90-24h} do inseticida à base de IMI sobre as abelhas foram determinadas, respectivamente, como segue: 1.58, 45.20 e 1290.21 $\mu\text{g i.a./L}$. Por outro lado, as CL_{10-24h} , CL_{50-24h} e CL_{90-24h} , EAR (Tabela 2; Figura 2 a,b) do inseticida à base de IMI sobre *T. clavipes* são reportadas, respectivamente, como mais tóxicas, em comparação ao EAT, a saber: 0.18, 15.26 e 1264.19 $\mu\text{g i.a./L}$. A mortalidade no controle não excedeu 10%. Durante a exposição, não houve recusa alimentar.

Tabela 1 - Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Imidacloprido sobre *Tetragona clavipes*.

Análise de Probit - 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30) versus Concentrações				
Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada ($\mu\text{g i.a./L}$)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
<i>Tetragona clavipes</i>				
10	1,58362	0,880704	0,349102	3,74973
50	45,2017	10,1953	28,4526	71,8288
90	1290,21	717,999	544,602	5858,81

Tabela 2 - Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Imidacloprido sobre *Tetragona clavipes*.

Análise de Probit - 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30) versus Concentrações				
Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada ($\mu\text{g i.a./L}$)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
<i>Tetragona clavipes</i>				
10	0,184379	0,198113	0,0065309	0,868590
50	15,2673	5,26677	6,18756	27,5661

90

1264,19

928,459

430,198

11921,6

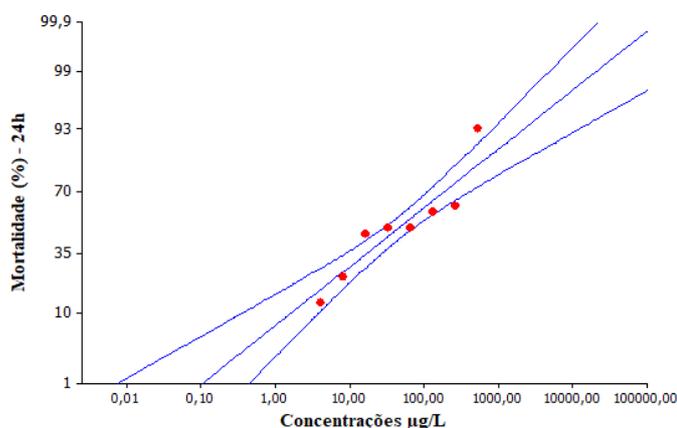


Figura 1 - Mortalidade de abelhas *Tetragona* expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Imidacloprido. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30).

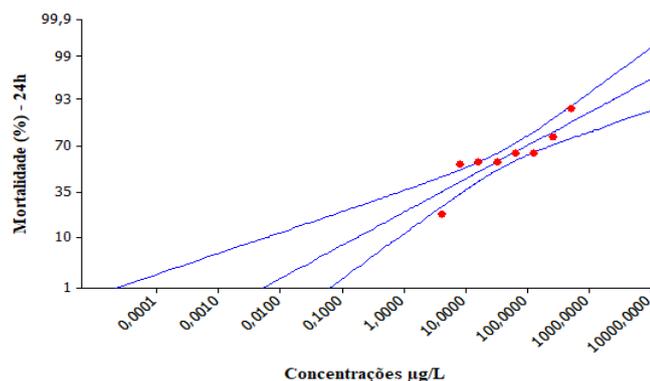


Figura 2 - Mortalidade de abelhas *Tetragona* expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Imidacloprido. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30).

Testes com o inseticida padrão de referência DM confirmaram maior sensibilidade de *T. clavipes* em comparação com IMI, vez que os dados de CL_{10-24h}, CL_{50-24h} e CL_{90-24h}, – EAT (Tabela 3; Figura 3) foram estimados, respectivamente, como 0.94, 7.13 e 53.96 µg i.a/L. Já as CL_{10-24h}, CL_{50-24h} e CL_{90-24h} - EAR (Tabela 4; Figura) foram estimadas, respectivamente, como 7.42, 16.27 e 35.70 µg i.a/L. A mortalidade no controle não excedeu 10%. Durante a exposição, não houve recusa alimentar.

Tabela 3 - Efeito Agudo Tópico de inseticida à base de Dimetoato sobre *Tetragona clavipes*.

Análise de Probit - 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30) versus Concentrações				
Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada (µg i.a./L)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior

Tetragona clavipes

10	0,944476	0,425845	0,280883	1,90493
50	7,13947	1,49245	4,29259	10,2278
90	53,9686	13,1085	36,1095	99,7652

Tabela 4 - Efeito Agudo Residual de inseticida à base de Dimetoato sobre *Tetragona clavipes*.

Análise de Probit - 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30) versus Concentrações

Concentração Letal – CL (%)	Concentração Estimada (µg i.a./L)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
<i>Tetragona clavipes</i>				
10	7,42187	1,01066	5,29421	9,30306
50	16,2793	1,44547	13,5972	19,4944
90	35,7074	4,87257	28,4755	50,0982

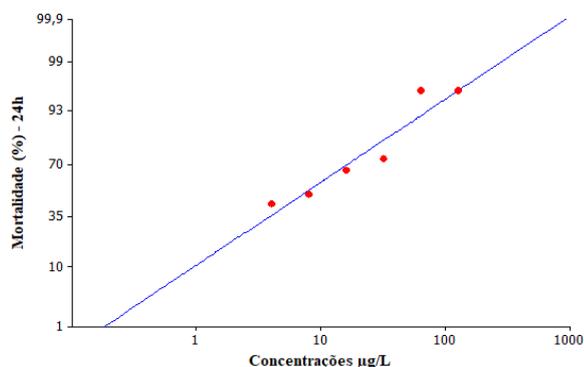


Figura 3 - Mortalidade de abelhas *Tetragona* expostas a concentrações letais tóxicas de inseticida à base de Dimetoato. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 30).

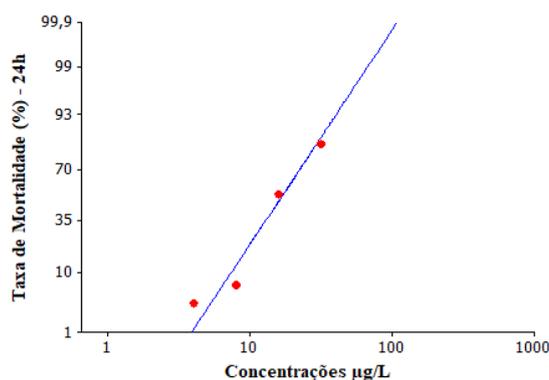


Figura 4 - Mortalidade de abelhas *Tetragona* expostas a concentrações letais residuais de inseticida à base de Dimetoato. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (48h); Observações (N = 30).

7.4 Discussão

Embora os efeitos do IMI sobre abelhas *Apis* sejam notavelmente conhecidos, o mesmo não ocorre com abelhas nativas (IBAMA, 2022). Além disso, nossos resultados apresentam duas vertentes pouco exploradas: susceptibilidade oral e exposição a névoa contaminada (efeito tóxico e residual), com determinação das CL_{10-24h} , CL_{50-24h} e CL_{90-24h} .

Nossos dados mostram que o IMI é altamente tóxico para *T. clavipes* (toxicidade letal) em concentrações passíveis de serem encontradas nos ambientes, como nas sementes e sistema produtivo (1 – 51 $\mu\text{g/L}$ e 61 a 127 $\mu\text{g/L}$ de IMI, respectivamente) (TASMAN et al., 2021), no solo seco (903,31 $\mu\text{g/kg}$) (BONMATIN et al., 2021) e no ecossistema aquático (11,9 $\mu\text{g/L}$) (PIETRZAK et al., 2019).

O teste de toxicidade aguda residual evidenciou maior toxicidade do IMI após a ingestão do alimento contaminado em comparação ao efeito tóxico (névoa contaminada). Tal fenômeno é compatível com informações de Jacob et al. (2019), ainda que o estudo tenha sido conduzido com a abelha jataí, *Tetragonisca angustula* (diante da inexistência de protocolo padrão para estudos com finalidade ecotoxicológica com abelhas do gênero *Tetragona*, as metodologias experimentais poderão diferir, incluindo a metodologia, o produto comercial ou o tempo de exposição).

Além disso, nossos dados de efeito tóxico são compatíveis com o de outros insetos (CL_{50} 12.9 – 19.9 $\mu\text{g/L}$) (PESTANA et al., 2009; AZEVEDO-PEREIRA; LEMOS; SOARES, 2011). Insetos presentes no ecossistema aquático são vulneráveis aos NNIs, com toxicidade aguda em concentrações abaixo de 20 $\mu\text{g/L}$ (ANDERSON; DUBETZ; PALACE, 2015). Concentrações que variam de 25 a 50 $\mu\text{g/L}$ de IMI, ao serem combinadas com outro fator estressante, como ácaros, são fatais para espécies como *Apis mellifera* (MA et al., 2021). Nas concentrações e 10 a 40 $\mu\text{g/L}$, reportou-se redução na sobrevivência de zangões e de *Apis cerana* (abelha nativa) (TAN et al., 2014; TASMAN; RANDS; HODGE, 2020).

Vale lembrar que a estrutura dos NNIs tem semelhança com a nicotina, sendo conhecidos como moléculas sintéticas. Quando da ingestão, se ligam ao sítio dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), não podem ser degradados e ocasionam constantes contrações musculares, com conseqüente paralisia e morte do inseto (BRAUN; GRONEBERG; KLINGELH, 2022). Apesar de os nAChRs serem mais frequentes em insetos, também são encontrados no sistema nervoso central e

periférico de mamíferos. Estima-se, em termo geral, que os insetos sejam de cinco a dez vezes mais susceptíveis aos NNIs, quando comparados a outros organismos (TOMIZAWA; CASIDA, 2005).

Entre os pesticidas, os “NNIs” do subgrupo nitroguanidina, que incluem o IMI, são significativamente mais tóxicos para abelhas (IBAMA, 2019). Em nAChRs de insetos, os efeitos agonísticos dos NNIs podem incluir atividade parcial, total ou exagerada (TAN; GALLIGAN; HOLLINGWORTH, 2007). Nas abelhas *Apis mellifera*, o IMI ativa os nAChRs, causando uma corrente interna nas células Kenyon, induzindo de 24 a 55% das correntes de pico induzidas pela acetilcolina (ACh) (DÉGLISE; GRÜNEWALD; GAUTHIER, 2002). Porém, o IMI pode ainda atuar como agonista total nos neurônios do lobo antenal de abelhas, hipotetizando diferentes ações do IMI em diferentes receptores nicotínicos (NAUEN; EBBINGHAUS-KINTSCHER; SCHMUCK, 2001).

Em abelhas, os NNIs tendem a reduzir o teor de ACh secretado no processo nutricional, impactando no tamanho da glândula hipofaríngea, ocasionando deficiências de desenvolvimento no interior da colônia (GRÜNEWALD; SIEFERT, 2019). Aparentemente a ação agonista dos NNIs está relacionada à estrutura do composto e aos subtipos de nAChRs (TAN; GALLIGAN; HOLLINGWORTH, 2007). Inseticidas NNIs danificam o sistema nervoso central dos insetos, interrompendo o mecanismo de ação do nAChR por meio de ligação irreversível, resultando em paralisia e morte (COSTA et al., 2015).

Além disso, insetos polinizadores, Hymenoptera em geral e abelhas *Apis* em particular, podem ser considerados vulneráveis aos inseticidas porque seus genomas têm poucos genes codificadores de enzimas anti-xenobióticas em comparação com outros insetos (IBAMA, 2019). Deste modo, entender as características do composto e o modo de ação parece um importante fator a ser considerado.

7.5 Referências

ANDERSON, J. C.; DUBETZ, C.; PALACE, V. P. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. **Science of the Total Environment**, 1 fev. 2015.

ASSIS, J. C. et al. Are native bees in Brazil at risk from the exposure to the neonicotinoid imidacloprid? **Environmental Research**, v. 212, n. March, 2022.

AZEVEDO-PEREIRA, H. M. V. S.; LEMOS, M. F. L.; SOARES, A. M. V. M. Effects

of imidacloprid exposure on *Chironomus riparius* Meigen larvae: Linking acetylcholinesterase activity to behaviour. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1210–1215, 2011.

BECKER, F. G. et al. Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas - meliponíneos. **Syria Studies**, v. 7, n. 1, p. 37–72, 2015.

BIESMEIJER, J. C.; SLAA, J. Field trial of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*. **Apidologie**, v. 38, p. 67–76, 2007.

BONMATIN, J. M. et al. Residues of neonicotinoids in soil, water and people's hair: A case study from three agricultural regions of the Philippines. **Science of the Total Environment**, v. 757, p. 143822, 2021.

BRAUN, M.; GRONEBERG, D. A.; KLINGELH, D. Neonicotinoids: A critical assessment of the global research landscape of the most extensively used insecticide. **Environmental Research**, v. 213, n. June, 2022.

BUCHMANN; NABHAN. The pollination crisis - The plight of the honey bee and the decline of other pollinators imperils future harvests. **Sciences**, v. 36, n. 4, p. 22–27, 1996.

CHAUZAT, M.-P. et al. A Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 253–262, 2009.

COSTA, L. M. et al. Determination of acute lethal doses (LD50 and LC50) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 62, n. 4, p. 578–582, 2015.

COSTANZA, R. et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Nature**, v. 387, p. 253 – 260, 1996.

DÉGLISE, P.; GRÜNEWALD, B.; GAUTHIER, M. The insecticide imidacloprid is a partial agonist of the nicotinic receptor of honeybee Kenyon cells. **Neuroscience Letters**, v. 321, n. 1–2, p. 13–16, 2002.

EMBRAPA. **Polinização na Agricultura**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/meio-ambiente/abelhas-nativas/criacao>>. Acesso em: 27 jul. 2022.

EPPO. Side-effects on honeybees. **EPPO Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 313–319, 2010.

GRÜNEWALD, B.; SIEFERT, P. Acetylcholine and its receptors in honeybees: Involvement in development and impairments by neonicotinoids. **Insects**, v. 10, n. 12, 2019.

IBAMA. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores. **Instituto Brasileiro De Recursos Naturais Renováveis – Ibama**, p. 1–298, 2019b. Acesso em: 11 nov. 2022.

IBAMA. **Reavaliação Ambiental.** Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/reavaliacao-ambiental#>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

JACOB, C. R. DE O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 1 jun. 2019.

JOHANSEN CARL, F MAYER DANIEL, C A JOHANSEN, J. C. L. Pollinator protection: a bee & pesticide handbook. **WicwasPress**, p. 21, 1990.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W.; WASER, N. M. Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 29, n. November, p. 83–112, 1998.

KEVAN, P. G.; VIANA, B. F. The global decline of pollination services, *Biodiversity*. **Biodiversity**, v. 4, n. 4, p. 3–8, 2003.

KLEIN, A. M. et al. Insect pollination of crops in Brazil. **Nature Conservation and Landscape Ecology, Albert-Ludwigs University Freiburg, Freiburg, Germany**, n. February, p. 149, 2020.

MA, S. et al. A combination of *Tropilaelaps mercedesae* and imidacloprid negatively affects survival, pollen consumption and midgut bacterial composition of honey bee. **Chemosphere**, v. 268, 2021.

MELO, B. S. et al. Is there a common mechanism of neonicotinoid resistance among insects? Preliminary results show that F1 larvae of pre-exposed *Chironomus xanthus* are more tolerant to imidacloprid. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 6, n. February, p. 100073, 2022.

MELO, B. S. et al. The multigenerational effects of clothianidin on *Chironomus xanthus*: Larvae exposed to this acetylcholine super agonist show no clear resistance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 245, n. September, p. 1–8, 2022.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SCHMUCK, R. Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Pest Management Science**, v. 57, n. 7, p. 577–586, 2001.

NIÑO, E. L. **Decifrando o misterioso declínio das abelhas.** Disponível em: <<https://www.universityofcalifornia.edu/news/deciphering-mysterious-decline-honey-bees>>. Acesso em: 9 nov. 2022.

NOGUEIRA, D. S.; OLIVEIRA, F. F. DE; OLIVEIRA, M. L. DE. Revision of the *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) species-group (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Zootaxa**, v. 5119, n. 1, 2022.

OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test. **OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS**, p. 7, 1998.

OSBORNE, J.L.; WILLIAMS, I.H.; CORBET, S. A. Bees, pollination and habitat change in the European Community. **Bee World**, v. 72, p. 99–116, 1991.

PESTANA, J. L. T. et al. Structural and functional responses of benthic invertebrates to imidacloprid in outdoor stream mesocosms. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 8–9, p. 2328–2334, 2009.

PIETRZAK, D. et al. Pesticides from the EU First and Second Watch Lists in the water Environment. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 47, p. 1–13, 2019.

PONCIANO, G. F.; MAY, D. Pólen coletado por *Tetragonisca angustula* em meliponários de zonas urbanas de Curitiba, Paraná. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 3, p. 326–331, 2021.

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

RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. K.-G. A. Ecologia nutricional de abelhas sociais: Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. **Fundação Oswaldo Cruz**, p. 225–252, 1991.

RATNIEKS, F. L. W.; CARRECK, N. L. Clarity on honey bee collapse? **Science**, v. 327, n. 5962, p. 152–153, 2010.

RODRIGUES, M. et al. FLIGHT ACTIVITY OF *Tetragona clavipes* (FABRICIUS , 1804) (Hymenoptera , Apidae , Meliponini) at the São Paulo University Campus in Ribeirão Preto. **Bioscience Journal, Uberlândia**, v. 23, n. Supplement 1, p. 118–124, 2007.

ROUBIK, W. D. Ecology and Natural History of tropical bees. **Cambridge University Press**, p. 514, 1989.

RS DUARTE, J. S.; SOARES, A. View of Nest Architecture of *Tetragona clavipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).pdf. **Sociobiology**, v. 63, n. 2, p. 813–818, 2016.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil>>. Acesso em: 9 nov. 2022.

TAN, K. et al. Imidacloprid alters foraging and decreases bee avoidance of predators. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 3–10, 2014.

TASMAN, K. et al. Neonicotinoids disrupt memory, circadian behaviour and sleep. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2021.

TASMAN, K.; RANDS, S. A.; HODGE, J. J. L. The Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid Disrupts Bumblebee Foraging Rhythms and Sleep. **IScience**, v. 23, n. 12, p. 101827, 2020.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247–268, 2005.

US-EPA. **Distúrbio de Colapso de Colônias**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/pollinator-protection/colony-collapse-disorder>>. Acesso em: 9 nov. 2022.

VAN ENGELSDORP, D. et al. A survey of honey bee colony losses in the U.S., Fall 2007 to Spring 2008. **PLOS ONE**, v. 3, n. 12, p. 8–13, 2008.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual de aproveitamento integral dos produtos das abelhas nativas sem ferrão**. 2018.

8. ARTIGO ORIGINAL – EXPERIMENTO III

EFEITO DE IMIDACLOPRIDO SOBRE A PLANÁRIA *Girardia tigrina*: ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS DE SOBREVIVÊNCIA, LOCOMOÇÃO, REGENERAÇÃO E FECUNDIDADE

RESUMO

A contaminação de corpos d'água é uma das principais causas de perda da biodiversidade aquática, e testes ecotoxicológicos são considerados uma ferramenta valiosa para análise dos riscos à biota presente nesses ecossistemas. Entre os compostos mais comumente encontrados em ecossistemas de água doce, tem-se o Imidacloprido (IMI), contaminante emergente (águas superficiais), com diversos produtos comerciais. O IMI é inseticida sistêmico de amplo espectro usualmente utilizado no tratamento de sementes, tratamento foliar, com vistas ao controle de pragas sugadoras e perfuradoras, incluindo outros organismos presentes no solo, como larvas, vermes e besouros. No entanto, estudos evidenciam potencial toxicidade sobre organismos não alvo. Deste modo, o presente estudo objetivou analisar a toxicidade aguda e crônica de inseticida à base de IMI (Imidagold 700 WG[®]) sobre a planária de água doce tropical *Girardia tigrina*, mediante ensaios ecotoxicológicos. No ensaio de toxicidade aguda, os organismos foram submetidos às seguintes concentrações: 50, 70, 98, 137.2, 192.08, 268.91, 376, 527 mg i.a./L de IMI, mais tratamento controle (apenas ASTM). Para avaliação de efeitos crônicos, exemplares *G. tigrina* foram expostos às concentrações de 100, 200, 400, 800, 1.600 µg i.a./L, mais o tratamento controle (apenas ASTM). Resultados de toxicidade aguda evidenciaram que o IMI não afetou a sobrevivência de *G. tigrina* em concentrações ambientalmente relevantes, com CL₅₀ 24h de 113,855 mg i.a./L. Por outro lado, parâmetros de locomoção (CEO igual a 200 µg i.a./L), regeneração de quimiorreceptores/fotorreceptores (CEO igual a 200 µg i.a./L) e reprodução nos fazem especular sobre potenciais danos neurotóxicos induzidos pela exposição de planárias de água doce a concentrações ambientalmente relevantes de IMI. Estudos com esses organismos poderão servir de fonte informativa para a compreensão do efeito de neonicotinoides em invertebrados aquáticos, que não sejam somente insetos não alvo. Nosso estudo mostra que concentrações de IMI já reportadas em águas superficiais (320 µg/L) poderiam afetar planárias em âmbito comportamental (locomoção), fisiológico (regeneração) e reprodução (fecundidade). Nesse sentido, ao considerar a importância de planárias nos ecossistemas de água doce tropical e pela posição trófica que ocupa, destacamos aqui a importância de *G. tigrina* como potencial organismo bioindicador de contaminação por IMI.

PALAVRAS-CHAVE: Neonicotinoides, sobrevivência; locomoção; regeneração; reprodução

ABSTRACT

Water body contamination is one of the main causes of aquatic biodiversity loss, and ecotoxicological tests are considered a valuable tool for analyzing risks to biota in these ecosystems. Imidacloprid (IMI) is an emerging contaminant in surface waters with many commercial products among the most found compounds in freshwater ecosystems. The IMI is a systemic insecticide of wide spectrum used in seed and foliar treatment to control sucking and piercing pests, including other organisms present in the soil, such as larvae, worms, and beetles. However, studies show potential toxicity to non-target organisms. Thus, this study aimed to analyze the acute and chronic toxicity of Imidacloprid-based insecticide (Imidagold 700 WG[®]) on the tropical freshwater flatworm *Girardia tigrina* through ecotoxicological tests. In the acute toxicity test, the organisms were subjected to the concentrations of 50, 70, 98, 137.2, 192.08, 268.91, 376, and 527 mg a.i./L of IMI plus the control treatment (ASTM only). *G. tigrina* specimens were exposed to concentrations of 100, 200, 400, 800, and 1,600 µg a.i./L plus the control treatment (ASTM only) for chronic effect evaluation. Acute toxicity results showed that IMI has not affected the survival of *G. tigrina* in environmentally relevant concentrations with LC₅₀ 24 h of 113,855 mg a.i./L. On the other hand, locomotion parameters (LOEC, Lowest Observed Effect Concentration equal to 200 µg a.i./L), chemoreceptors/photoreceptors regeneration (LOEC equal to 200 µg a.i./L), and reproduction generate speculation about potential neurotoxic damage induced by the freshwater flatworm exposure to IMI environmentally relevant concentrations. Studies with these organisms could be an informative source to understand the neonicotinoid effect on aquatic invertebrates, not just non-target insects. This study shows that IMI concentrations already reported in surface waters (320 µg/L) could affect flatworm in behavioral (locomotion), physiological (regeneration), and reproductive (fertility) context. In this sense, the importance of *G. tigrina* is highlighted as a potential bioindicator organism of IMI contamination, considering the flatworm importance in tropical freshwater ecosystems and its trophic position.

KEYWORDS: Locomotion, neonicotinoids, regeneration, reproduction, survival.

8.1 Introdução

Os neonicotinoides (NNIs) são uma classe de inseticidas sintéticos, considerada a mais utilizada no mundo (SIVITER; MATTHEWS; BROWN, 2022), em virtude de sua alta solubilidade, bem como da sua toxicidade para invertebrados (YUAN et al., 2022) e da baixa toxicidade para mamíferos (FAN et al., 2022). Os NNIs atuam no sistema nervoso central do inseto (JACTEL et al., 2019; LIAO et al., 2022), são agonistas de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR), pertencente ao Grupo 4 (modulador competitivo) (IRAC, 2015), fazendo o nome (NNIs) menção a novos inseticidas nicotínicos (EC, 2022). Os produtos dessa classe são utilizados para o combate a insetos-praga (*Aphis gossypii*, *Frankliniella schultzei*, *Thrips palmi*, *Myzus persicae*, *Heterotermes tenuis*, *Thrips tabaci*, *Phyllocnistis citrella*, *Toxoptera citricida*, *Oncometopia facialis*, *Orthezia praelonga*, *Selenaspidus articulatus*, *Thrips palmi*) (UPL, 2022), no tratamento de sementes, bem como na pulverização de cultivos agrícolas, protegendo sistemicamente a produção, ao passo que reduz gastos com outros insumos (BERHEIM et al., 2019), sendo ainda utilizados como medicamentos veterinários (VMPs) (EC, 2022). Sua origem data de 1990 (TAIRA et al., 2021), sendo considerada a classe mais utilizada mundialmente (PAN, 2022).

A exemplo de NNIs, tem-se o Imidacloprido (IMI), 1H-Imidazol-2-amina, 1-[(6-cloro-3-piridinil)metil]-4,5-dihidro-N-nitro- (EPA, 2022), cloro-nicotinil sistêmico (DIYPESTCONTROL, 2022), que apresenta alta solubilidade em água, que, combinado com baixo K_{oc} (132 a 310), evidencia risco de contaminação de águas subterrâneas (lençol freático) por lixiviação, e com moderado valor de K_{ow} (3,7) combinado com a rápida fotodegradação em água e em solo, indica baixo potencial de bioacumulação (IBAMA, 2020). Esse ingrediente ativo é persistente no solo e moderadamente móvel (LEWIS et al., 2021). Devido à reportes de alta toxicidade e restrições da UE, foi proibido na França desde 2018 (SLABY et al., 2022). Estudos denotam o IMI em concentrações de até 320 µg/L em águas superficiais (MA et al., 2021), o que está elevadamente acima do limite de referência de 0,01 µg/L, estabelecido pela EPA (STINSON et al., 2022).

No ambiente aquático, as principais vias de contaminação dos organismos ocorrem por contato direto e alimentação (água ou por sedimento) (ANDERSON; DUBETZ; PALACE, 2015). Embora o IMI apresente maior toxicidade para invertebrados, sugere-se neurotoxicidade em peixes-zebra e ativação dos receptores

nicotínicos de acetilcolinesterase em outros organismos aquáticos (STINSON et al., 2022). Mamíferos tendem a ser menos sensíveis do que insetos (EFSA, 2022). No crustáceo *Litopenaeus vannamei*, foram reportados riscos de declínio e redução na expectativa de vida quando expostos a concentrações de 54,14 µg/L de IMI, com redução de peso na faixa de 5,41- 54,14 µg/L de IMI (FU et al., 2022).

A planária *Girardia tigrina* [Girard (Girard, 1850) (Paludicola: Dugesiiidae)] (Anexo B), é um animal invertebrado, do filo dos Platyelminthos, considerada presa, bem como predadora, que, no ecossistema, se alimenta de lixo, larvas, vermes e tem sistema nervoso central semelhante ao dos mamíferos (BERHEIM et al., 2019). Planárias tem sido usualmente reportadas como potenciais bioindicadoras do impacto de inseticidas em ecossistemas de água doce (SARAIVA et al., 2018; LÓPEZ et al., 2019; SARAIVA et al., 2020; DORNELAS et al., 2021; PESTANA; OFOEGBU, 2021) por meio de ensaios ecotoxicológicos rápidos e de baixo custo. Estudos têm mostrado que parâmetros de sobrevivência, alimentação, regeneração e reprodução de planárias são aspectos importantes para um bom organismo bioindicador de contaminação por xenobióticos (SARAIVA et al., 2018; VILA-FARRÉ; RINK, 2018; WU; LI, 2018; LÓPEZ et al., 2019; OFOEGBU et al., 2019; DORNELAS et al., 2021; PESTANA; OFOEGBU, 2021; DORNELAS et al., 2022).

Considerando a importância produtiva e econômica dos NNIs, bem como os impactos em organismos aquáticos não alvo, o presente estudo visou a avaliar a toxicidade de IMI em *G. tigrina*, através de parâmetro de sobrevivência, bem como parâmetros de locomoção, regeneração e fecundidade.

8.2 Material e Métodos

8.2.1 Aquisição do Produto Comercial

O composto comercial à base de IMI utilizado para os testes experimentais foi o Imidagold 700 WG[®] (Imidacloprido 70%, grânulos dispersíveis, UPL do Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agropecuários S. A., Ituverava, SP, Brasil), adquirido da Agroquima Produtos Agropecuários Ltda.

8.2.2 Aquisição e Manutenção da Cultura

As planárias foram adquiridas de uma cultura estabelecida no Laboratório de Águas e Efluentes (Sala de Bioensaios) do Instituto Federal de Educação, Ciência e

Tecnologia Goiano- Campus Rio Verde. Os organismos foram cultivados em meio cultura ASTM (ASTM, 1980) pelo Grupo de Pesquisa em Conservação de Agroecossistemas e Ecotoxicologia (CAE), alimentados uma vez por semana com fígado bovino (*ad libitum*), com posterior troca do meio de cultura, sendo mantidos em temperatura constante de 22 ± 1 °C.

8.2.3 Ensaios Agudos

Os ensaios (Apêndice D) foram conduzidos com oito concentrações de Imidagold 700 WG® (50, 70, 98, 137.2, 192.08, 268.91, 376, 527 mg i.a./L de IMI), mais tratamento controle, meio ASTM. Os organismos foram alocados em recipientes de Polietileno Tereftalato – PET com capacidade de 25 mL, contendo 20 mL das respectivas soluções experimentais. Cada tratamento constitui-se de 5 repetições com quatro planárias por repetição. Para a determinação da CL₅₀, foram tabulados os dados obtidos após um período de observação de 24h. A mortalidade foi determinada quando da exposição à luz os organismos apresentavam degeneração ou estavam imóveis (SARAIVA et al., 2018; OFOEGBU et al., 2019b).

8.2.4 Ensaios Crônicos de Regeneração e Locomoção

Tendo como referência os dados de CL₅₀ e os dados reportados na literatura científica para outros organismos aquáticos, foram determinadas as concentrações para ensaios de toxicidade crônica (100, 200, 400, 800, 1600 µg i.a./L), respectivamente.

Para os ensaios de locomoção e regeneração com *G. tigrina*, foram utilizados organismos de $1 (\pm 0,1)$ cm de comprimento. As planárias foram expostas durante 08 dias a 05 diferentes concentrações subletais de IMI (100 mL), mais o tratamento controle em meio ASTM (ASTM, 1980), alocadas em recipientes de Polietileno Tereftalato – PET. A exposição dos organismos foi realizada em temperatura controlada de 22 ± 1 °C, fotoperíodo escuro. O desenho experimental (Apêndice E) consistiu de grupos de 3 repetições (10 organismos por repetição), com 30 organismos por tratamento (SARAIVA et al., 2018). As planárias foram submetidas a dieta zero pelo período de uma semana antes dos ensaios experimentais (SIMÃO, 2020; DORNELAS et al., 2021).

8.2.4.1 Atividade Locomotora

Para avaliação de locomoção, 15 planárias por tratamento, do total de 30 planárias expostas, foram alocadas individualmente (um organismo por repetição, total de 15 repetições) em placas de Petri ($\varnothing = 7,5$ cm) contendo 100 mL das respectivas soluções experimentais supramencionadas, para determinação da distância percorrida. A avaliação foi feita utilizando papel milimetrado (0,5 cm de espaçamento entre as linhas de grade), em recipiente circular (300 mm), com diâmetro e quantidade de meio ASTM suficiente que permitissem o livre deslocamento da planária. Após alocação e adaptação (1 min), os organismos expostos foram observados por 2 minutos para posterior cálculo do deslocamento (adaptado de LÓPEZ et al., 2019).

8.2.4.2 Regeneração – Quimiorreceptores e Fotorreceptores

As 15 planárias remanescentes do ensaio de locomoção foram utilizadas para avaliação da regeneração da cabeça (através de quimiorreceptores e fotorreceptores). Os organismos foram decapitados (corte único) abaixo dos quimiorreceptores e, posteriormente, transferidos individualmente para um recipiente de Polietileno Tereftalato – PET, contendo 20 mL de das respectivas soluções experimentais - tratamentos. A regeneração foi avaliada pela contagem do número de horas até a formação completa de novos fotorreceptores e quimiorreceptores (adaptado de SARAIVA et al., 2018; LÓPEZ et al., 2019).

8.2.5 Exposição Crônica para Avaliação da Reprodução

Planárias adultas, em fase reprodutiva, foram selecionadas ($1,5 \pm 0,1$ cm de comprimento total) e expostas a cinco concentrações (100, 200, 400, 800 e 1.600 $\mu\text{g i.a./L}$) de IMI, mais tratamento controle, apenas meio ASTM, pelo período de quatro semanas (LÓPEZ et al., 2019; DORNELAS et al., 2021; SIMÃO et al., 2021). No presente experimento, foram utilizados 30 organismos por tratamento, separados em grupos de 3 repetições com 10 planárias por repetição (sub-repetição). O ensaio experimental foi conduzido no escuro e avaliado diariamente.

A fecundidade foi avaliada segundo metodologia de Knakievicz et al. (2006). Foi determinada pela divisão do número de casulos colocados pelas planárias por dia, pelo número de planárias por tratamento (DORNELAS et al., 2022). Os organismos

foram expostos em recipientes de vidro com 100 mL de solução experimental, em temperatura controlada 22 ± 1 °C.

8.3 Análise Estatística

A CL_{50} de IMI sobre *G. tigrina* foi estimada por análise de Probit, com utilização do software estatístico Minitab 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA). Para os ensaios de toxicidade crônica, foi feita a ANOVA (análise de variância), seguida do teste de post hoc de Dunnet para comparação com o controle. Antes da realização da ANOVA, seus pressupostos foram atendidos, a saber: análise de homogeneidade de variância, teste de Bartlett; e normalidade dos dados, teste de Kolmogorov-Smirnov. Dados de regeneração não atenderam aos pressupostos da ANOVA e foram analisados por estatística não paramétrica pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste post hoc de Dunns. Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism, versão 7.0, para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA).

8.4 Resultados

Ao fim de 24 horas de exposição, as CL_{10} , CL_{50} e CL_{90} foram iguais a 69.0806, 113.855, 187.649 mg i.a./L (IC 95% - 54,9543-80,2634; 100,707-129,126; 160,594-238,727), respectivamente. Nenhuma mortalidade foi observada no tratamento controle.

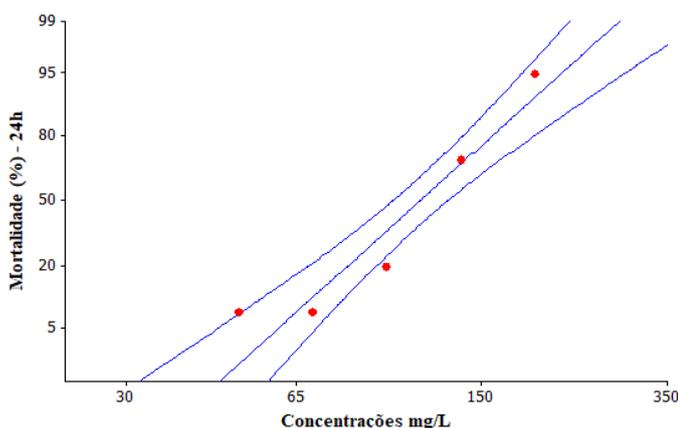


Figura 1 - Mortalidade de planárias *Girardia tigrina* expostas a concentrações letais de inseticida à base de Imidacloprido. Análise de Probit – 95% Intervalo de Confiança: Mortalidade (24h); Observações (N = 20).

8.4.1 Efeito Crônico do Inseticida Imidagold 700 WG

8.4.1.1 Atividade Locomotora

A locomoção de *G. tigrina* foi significativamente afetada após 8 dias de exposição ao IMI ($F_{5, 83} = 27.35$; $p < 0,0001$), com CENO igual a 100 $\mu\text{g i.a./L}$ e CEO igual a 200 $\mu\text{g i.a./L}$.

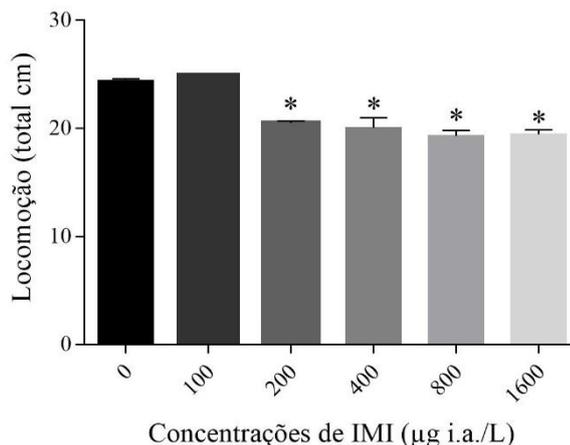


Figura 2 - Efeito crônico de Imidacloprido em *Girardia tigrina* – locomoção total (cm), no escuro. Os dados são apresentados como média \pm SEM, $n = 15$, após 8 dias de exposição. *Indica diferença significativa em relação ao tratamento controle (ASTM = 0), $p < 0,001$ (teste de Dunnett's).

8.4.1.2 Regeneração – Quimiorreceptores e Fotorreceptores

A regeneração de quimiorreceptores e de fotorreceptores ($H = 69.43$, $p < 0,0001$, teste de Kruskal-Wallis, Figura 3), em comparação com os tratamentos controle, foi significativamente afetada - CENO igual a 100 $\mu\text{g i.a./L}$ e CEO igual a 200 $\mu\text{g i.a./L}$.

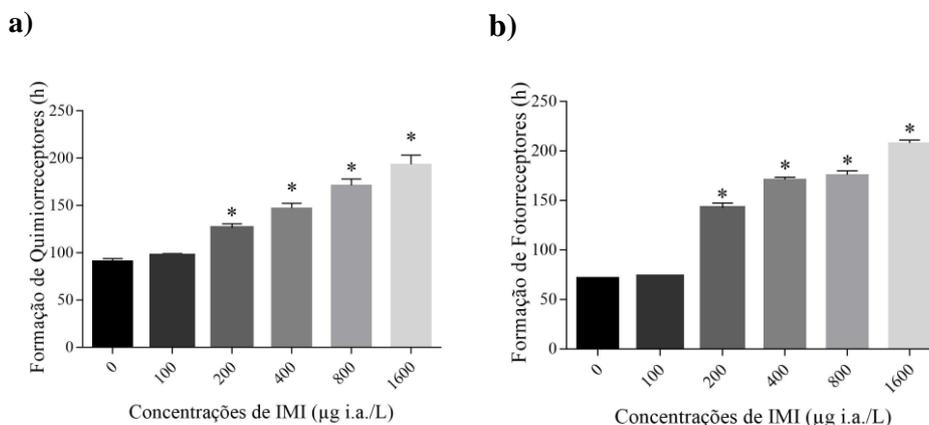


Figura 3 - Regenerações, medidas em dias até as formações completas dos quimiorreceptores e fotorreceptores (8 dias de exposição) - a) Quimiorreceptores; b) Fotorreceptores. Os dados são apresentados como média \pm SEM, $n = 15$. *Indica

diferença significativa em relação ao tratamento controle ($p < 0,001$, teste de Kruskal-Wallis).

8.4.1.3 Reprodução – Fecundidade

Planárias expostas ao tratamento de controle (ASTM) apresentaram maior taxa de fecundidade. À medida que aumentava o período de exposição, a taxa de fecundidade era reduzida. A taxa de fecundidade (Fc) de *G. tigrina* foi significativamente reduzida após exposição ao IMI, com redução de 36% na maior concentração, em comparação com o tratamento controle.

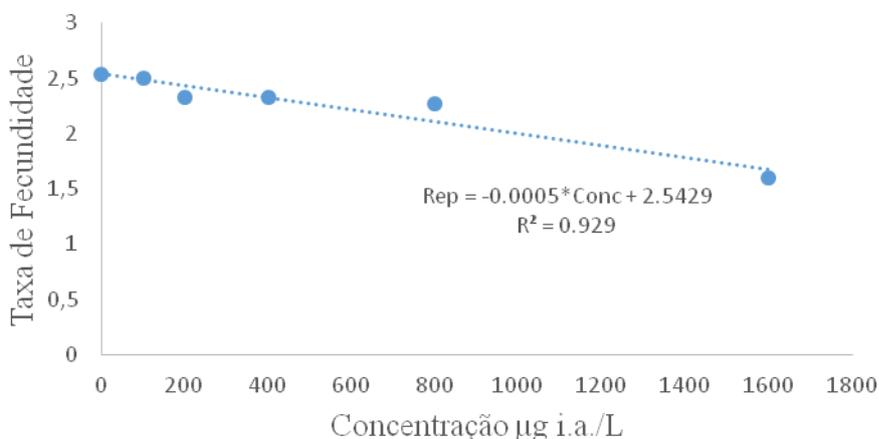


Figura 4 - Taxa de fecundidade de *Girardia tigrina* apresentada como equação de regressão linear (n=15 planárias, pelo período de quatro semanas). $R^2 = 0.92$, $p = 0.01149$.

8.5 Discussão

O presente estudo evidencia que CL_{50} de 113.855 mg i.a./L excede concentrações ambientalmente relevantes em águas superficiais de até 320 µg/L (MORRISSEY et al., 2015; MA et al., 2021), o que reporta tolerância de *G. tigrina* a concentrações de IMI consideradas letais para outros organismos aquáticos. Como no caso dos insetos aquáticos *Aedes aegypti* (48 h CL_{50} : 44–360 µg/L), *Chironomus dilutus* (14 d CL_{50} : 1,52 µg/L) e *Chironomus tentans* (96 h CL_{50} : 2.65–5.75 µg/L), crustáceo *Hyalella azteca* (96h CL_{50} : 65.3 µg/L) (KOBASHI et al., 2017) e invertebrado *Litopenaeus vannamei* (96 h CL_{50} : 162.43 µg/L) (FU et al., 2022). Sabe-se que pela finalidade inseticida do composto, o IMI tende a ser mais tóxico para insetos (UPL, 2022), invertebrados e alguns crustáceos com menor afinidade para mamíferos (MORRISSEY et al., 2015). Segundo Barbosa et al. (2022), as planárias (*G. tigrina*) apresentam maior tolerância aos NNIs, Tiametoxam – TMX, em comparação com

outras espécies alvo e não alvo, como Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Homoptera e Hemiptera, mas não são mais tolerantes que as espécies de coleópteros *Callosobruchus maulates*, *Adalia bipunctata* e *Coccinella undecimpunctata*. Estudo também conduzido por Saraiva et al. (2016) com o neonicotinoide TMX reforça a afirmação ($CL_{50} 96h > 60.000 \mu g/L$).

Possivelmente, a presença elevada de subtipos de nAChR nas planárias seja a principal causa para a observação de locais com baixa afinidade de ligação aos NNIs (MALHOTRA et al., 2022; MELO et al., 2022a; MELO et al., 2022b; BARBOSA et al., 2022). Esta característica pode ser explicada pela diversidade funcional dos subtipos de nAChR presentes em planárias, permitindo uma ampla gama de respostas celulares aos estímulos acetilcolinérgicos. Portanto, a compreensão da presença e da função dos subtipos de nAChR em planárias é de grande importância para o avanço do conhecimento sobre a fisiologia destes organismos e seu papel na regulação da comunicação celular.

No âmbito de toxicidade letal, nosso estudo sugere que a *G. tigrina* seja mais tolerante aos NNIs, quando comparada a algumas espécies (MORRISSEY et al., 2015; UPL, 2022; BARBOSA et al., 2022). A baixa sensibilidade de *G. tigrina* ao IMI também pode estar relacionada a mecanismos de detoxificação eficientes presentes em seu sistema (como exemplo, citocromo P450), capazes de inativar ou excretar o contaminante antes que ele cause danos irreparáveis aos tecidos (BASS et al., 2015; HAGSTROM; COCHET-ESCARTIN; COLLINS, 2016; SARAIVA et al., 2018).

Por outro lado, parâmetros comportamentais (especificamente para locomoção), fisiológicos (especificamente para regeneração) e de reprodução (especificamente para fecundidade) denotam potenciais danos neurotóxicos induzidos pela exposição de planárias de água doce em concentrações ambientalmente relevantes de IMI (a partir de $200 \mu g/L$ i.a.). A toxicidade subletal do IMI nesse organismo muito provavelmente se dá em decorrência do produto utilizado (ingrediente ativo - potencializadores) e modo de ação (agente neurotóxico), embora o dano causado não seja de efeito letal e imediato (IRAC, 2015; SARAIVA et al., 2016; MELO et al., 2022). A planária tem um sistema nervoso central semelhante ao do homem, assim tem sido usualmente utilizada em estudos de neurotoxicidade (POIRIER et al., 2019). Sabe-se ainda que parâmetros crônicos de planárias são sensíveis a pesticidas neurotóxicos (RODRIGUES et al., 2016).

E como esperado, os endpoints são mais sensíveis quando comparados a dados de sobrevivência (OFOEGBU et al., 2016; RODRIGUES et al., 2016; SARAIVA et al., 2018; SARAIVA et al., 2020; DORNELAS et al., 2020; SILVA et al., 2021; REIS et al., 2022). Além disso, metodologias com inclusão de planárias de água doce têm sido despertadas em todo o mundo, pois a sensibilidade e a relevância observadas em determinado parâmetro, como, por exemplo, a locomoção, podem evidenciar alterações nos níveis mais elevados de organização biológica por resultarem de uma série de processos bioquímicos e fisiológicos ocasionados pelo estresse ambiental (MALTBY et al., 2002; HELLOU, 2011; LÓPEZ et al., 2021). A avaliação de toxicidade crônica é fundamental para previsão de efeitos adversos dos pesticidas em populações naturais, bem como para o funcionamento do ecossistema (HANAZATO, 2001; RELYEA; HOVERMAN, 2006; SHUMAN-GOODIER; PROPPER, 2016; LÓPEZ et al., 2019).

Em nosso estudo, a distância percorrida foi significativamente afetada. Embora as planárias se locomovam principalmente por deslizamento (batimento), o comportamento locomotor está diretamente relacionado ao funcionamento do sistema nervoso (NISHIMURA et al., 2007; LÓPEZ et al., 2021), ao passo que contrações musculares podem ser empregadas involuntariamente por hiperexcitabilidade. Possivelmente o IMI cause danos ao sistema nervoso central das planárias ao interferir na função dos nAChR, o que pode levar à diminuição da transmissão nervosa e à manifestação de sintomas como paralisia e perda de reflexos. Notavelmente, efeitos crônicos que afetam a dinâmica populacional - sobrevivência a curto e longo prazo, bem como na reprodução, podem ocorrer como resultado do comprometimento da atividade locomotora, que também pode afetar negativamente o comportamento predatório, alimentação e a capacidade de escapar de predadores e crescimento (OVIEDO et al., 2008; CLAUDE AMIARD-TRIQUET, 2009; INOUE et al., 2015; SARAIVA et al., 2020; DORNELAS et al., 2021). Além disso, outros trabalhos relatam efeitos toxicológicos dos NNIs na reprodução de organismos não alvo (ALEXANDER; HEARD; JOSEPH M. CULP, 2008; FERREIRA-JUNIOR et al., 2018).

O IMI também afetou a capacidade de regeneração de *G. tigrina*. Sabe-se que a capacidade de regeneração da planária pode ser afetada em consequência da ação do IMI no sistema nervoso central, alterando a atividade dos neurônios e perturbando a comunicação celular, necessária para que a regeneração seja eficiente. Relevante lembrar que a capacidade de regeneração da planária é uma habilidade complexa

resultante da ação das células totipotentes (células-troco - neoblastos) presentes em seus tecidos (ROSSI et al. 2008; REDDIEN, 2018; PEARSON, 2022). E a exposição a contaminantes pode afetar esta capacidade, mas a extensão da recuperação depende da natureza e da toxicidade do contaminante (LOPEZ et al., 2019; SARAIVA et al., 2020; SILVA et al., 2021; DORNELAS et al., 2021).

Nosso estudo tem grande relevância ao evidenciar que, embora a planária seja tolerante a concentrações ambientalmente relevantes de IMI no âmbito de sobrevivência (evidenciado pela CL₅₀), concentrações encontradas no ambiente podem ocasionar efeitos na capacidade locomotora, reprodutiva e regenerativa de planárias – o que poderia, no ambiente natural, impactar o funcionamento dos ecossistemas de água doce tropical. Neste sentido, além de demonstrar a toxicidade crônica em potencial de IMI sobre *G. tigrina*, nosso estudo revela o potencial deste organismo em ensaios ecotoxicológicos com contaminantes emergentes, tais como NNIs.

8.6 Referências

ANDERSON, J. C.; DUBETZ, C.; PALACE, V. P. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. **Science of the Total Environment**, 1 fev. 2015.

BARBOSA, R. S. et al. Eco(toxicological) Assessment of the Neonicotinoid Formulation Actara ® Using Planarian *Girardia tigrina* as Model Organism. **Pollutants**, p. 546–555, 2022.

BASS, C. et al. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 78–87, 2015.

BERHEIM, E. H. et al. Effects of Neonicotinoid Insecticides on Physiology and Reproductive Characteristics of Captive Female and Fawn White-tailed Deer. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

CLAUDE AMIARD-TRIQUET. Behavioral disturbances: the missing link between sub_organismal and supra-organismal responses to stress? Prospects based on aquatic re_search. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 15, n. 1, p. 87–110, 2009.

DIYPESTCONTROL. **Imidacloprid**. Disponível em: <<https://diypestcontrol.com/active-ingredients/imidacloprid-insecticide>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

DORNELAS, A. S. P. et al. Effects of two biopesticides and salt on behaviour, regeneration and sexual reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, 15 fev. 2021.

DORNELAS, A. S. P. et al. Lethal and sublethal effects of the saline stressor sodium chloride on *Chironomus xanthus* and *Girardia tigrina*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 34223–34233, 1 set. 2020.

DORNELAS, A. S. P. et al. The sexual reproduction of the nontarget planarian *Girardia tigrina* is affected by ecologically relevant concentrations of difenoconazole: new sensitive tools in ecotoxicology. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 0123456789, 2022.

EC. **Some facts about neonicotinoids.** Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/neonicotinoids_en#current-status-of-the-neonicotinoids-in-the-eu>. Acesso em: 10 nov. 2022.

EPA. **Imidacloprid.** Disponível em: <https://ordspub.epa.gov/ords/pesticides/f?p=CHEMICALSEARCH:3:::21,3,31,7,12,25:P3_XCHEMICAL_ID:2571>. Acesso em: 10 nov. 2022.

FAN, L. et al. Comparative analysis on the photolysis kinetics of four neonicotinoid pesticides and their photo-induced toxicity to *Vibrio fischeri*: Pathway and toxic mechanism. **Chemosphere**, v. 287, n. P3, p. 132303, 2022.

FERREIRA-JUNIOR, D. F. et al. Effects of a Thiamethoxam-Based Insecticide on the Life History of *Chironomus xanthus*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, n. 11, 1 nov. 2018.

FU, Z. et al. Impact of imidacloprid exposure on the biochemical responses, transcriptome, gut microbiota and growth performance of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, n. PB, p. 127513, 2022.

HANAZATO, T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: An ecological perspective. **Environmental Pollution**, v. 112, n. 1, p. 1–10, 2001.

HAGSTROM, D.; COCHET-ESCARTIN, O.; COLLINS, E. S. Planarian brain regeneration as a model system for developmental neurotoxicology. **Regeneration**, p. 65–77, 2016.

HELLOU, J. Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2011.

IBAMA. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores. **IBAMA**, p. 298, 2019.

INOUE, T. et al. Planarian shows decision-making behavior in response to multiple stimuli by integrative brain function. **Zoological Letters**, v. 1, n. 1, p. 1–15, 2015.

IRAC. IRAC Guidelines for Management of Resistance to Group 4 insecticides. **IRAC Sucking Pest Working Group**, n. December 2014, p. 1–4, 2015.

JACTEL, H. et al. Alternatives to neonicotinoids. **Environ Int**, v. 129, p. 423–429, 2019.

KNAKIEVICZ, T. et al. Reproduction modes and life cycle of freshwater planarians (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicula) from Southern Brazil. **Invertebrate Biology**, v. 125, n. 3, p. 212–221, 2006.

KOBASHI, K. et al. Comparative ecotoxicity of imidacloprid and dinotefuran to aquatic insects in rice mesocosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, n. December 2016, p. 122–129, 2017.

LEWIS, K. A. et al. Imidacloprid (Ref: BAY NTN 33893). **An International Journal**, p. 1050–1064, 2021.

LIAO, Y. et al. MIL-101(Cr) based d-SPE/UPLC-MS/MS for determination of neonicotinoid insecticides in beverages. **Microchemical Journal**, v. 175, n. November 2021, p. 107091, 2022.

LÓPEZ, A. M. C. et al. Behavioral parameters of planarians (*Girardia tigrina*) as fast screening, integrative and cumulative biomarkers of environmental contamination: Preliminary results. **Water (Switzerland)**, v. 13, n. 8, 2 abr. 2021.

LÓPEZ, A. M. C. et al. Exposure to Roundup affects behaviour, head regeneration and reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Science of the Total Environment**, v. 675, p. 453–461, 20 jul. 2019.

MA, S. et al. A combination of *Tropilaelaps mercedesae* and imidacloprid negatively affects survival, pollen consumption and midgut bacterial composition of honey bee. **Chemosphere**, v. 268, 2021.

MA, Y. et al. A novel, efficient and sustainable magnetic sludge biochar modified by graphene oxide for environmental concentration imidacloprid removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, n. December 2020, 2021.

MALHOTRA, N. et al. Physiological effects of neonicotinoid insecticides on non-target aquatic animals—an updated review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, 2021.

MALTBY, L. et al. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 361–368, 2002.

MELO, B. S. et al. Is there a common mechanism of neonicotinoid resistance among insects? Preliminary results show that F1 larvae of pre-exposed *Chironomus xanthus* are more tolerant to imidacloprid. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 6, n. February, p. 100073, 2022.

MELO, B. S. et al. The multigenerational effects of clothianidin on *Chironomus xanthus*: Larvae exposed to this acetylcholine super agonist show no clear resistance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 245, n. September, p. 1–8, 2022.

- MORRISSEY, C. A. et al. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. **Environment International**, 1 jan. 2015.
- NISHIMURA, K. et al. Reconstruction of dopaminergic neural network and locomotion function in planarian regenerates. **Developmental Neurobiology**, v. 67, n. 8, 2007.
- OFOEGBU, P. U. et al. Combined effects of NaCl and fluoxetine on the freshwater planarian, *Schmidtea mediterranea* (Platyhelminthes: DugesIIDae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 11, p. 11326–11335, 1 abr. 2019b.
- OFOEGBU, P. U. et al. Effects of low concentrations of psychiatric drugs (carbamazepine and fluoxetine) on the freshwater planarian, *Schmidtea mediterranea*. **Chemosphere**, v. 217, p. 542–549, 1 fev. 2019a.
- OFOEGBU, P. U. et al. Toxicity of tributyltin (TBT) to the freshwater planarian *Schmidtea mediterranea*. **Chemosphere**, v. 148, p. 61–67, 2016.
- OVIEDO, N. J. et al. Planarians: A versatile and powerful model system for molecular studies of regeneration, adult stem cell regulation, aging, and behavior. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 3, n. 10, p. 1–8, 2008.
- PAN. **Our work on neonicotinoids (neonics)**. Disponível em: <https://www.pan-uk.org/about_neonicotinoids/>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- PEARSON, B. J. Finding the potency in planarians. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 1–4, 2022.
- PESTANA, J. L. T.; OFOEGBU, P. U. Ecotoxicity Assays Using Freshwater Planarians. **Methods Mol Biol**, v. 2240, p. 125–137, 2021.
- POIRIER, L. et al. Planarian, an emerging animal model for toxicology studies. **Medecine/Sciences**, v. 35, n. 6–7, p. 544–548, 1 jun. 2019.
- REDDIEN, P. W. The cellular and molecular basis for planarian regeneration. **Cell**, v. 175, n. 2, p. 327–345, 2018.
- REIS, E. B. et al. Responses of Freshwater Planarian *Girardia tigrina* to Fipronil-Based Insecticide: Survival, Behavioral and Physiological Endpoints. **Diversity**, v. 14, n. 9, p. 698, 2022.
- RELYEA, R.; HOVERMAN, J. Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. **Ecology Letters**, v. 9, p. 1157–1171, 2006.
- RODRIGUES, A. C. M. et al. Behavioural responses of freshwater planarians after short-term exposure to the insecticide chlorantraniliprole. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 371–376, 2016a.
- ROSSI, L. et al. Planarians, a tale of stem cells. **Cell Mol Life Sci**, v. 65, n. 1, p. 16–23, 2008.

SARAIVA, A. DE S. et al. Assessment of Thiamethoxam Toxicity to *Chironomus riparius* and *Dugesia tigrina*. ICOETox; IBAMTox. **Anais...**2016

SARAIVA, A. S. et al. Lethal and sub-lethal effects of cyproconazole on freshwater organisms: a case study with *Chironomus riparius* and *Dugesia tigrina*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 12169–12176, 1 abr. 2018.

SARAIVA, A. S. et al. Strategies of cellular energy allocation to cope with paraquat-induced oxidative stress: Chironomids vs Planarians and the importance of using different species. **Science of the Total Environment**, v. 741, 1 nov. 2020.

SHUMAN-GOODIER, M. E.; PROPPER, C. R. A meta-analysis synthesizing the effects of pesticides on swim speed and activity of aquatic vertebrates. **Science of the Total Environment**, v. 565, p. 758–766, 2016.

SILVA, L. C. R. et al. Do bio-insecticides affect only insect species? Behavior, regeneration, and sexual reproduction of a non-target freshwater planarian. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021.

SIMÃO, F. C. P. et al. Effects of pyrene and benzo[a]pyrene on the reproduction and newborn morphology and behavior of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Chemosphere**, v. 264, 2021.

SIMÃO, F. C. P. et al. Toxicity of different polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Environmental Pollution**, v. 266, 2020.

SIVITER, H.; MATTHEWS, A. J.; BROWN, M. J. F. Environmental Impacts of Proposed Management Options A Combined LD 50 for Agrochemicals and Pathogens in Bumblebees (*Bombus terrestris* [Hymenoptera: Apidae]). **Environmental Entomology**, n. Xx, p. 1–7, 2022.

SLABY, S. et al. Distribution and fate of pesticides and transformation products in small lentic waterbody: Fish, water and sediment contaminations in an agricultural watershed. **Environmental Pollution**, v. 292, 2022.

STINSON, S. A. et al. Agricultural surface water, imidacloprid, and chlorantraniliprole result in altered gene expression and receptor activation in *Pimephales promelas*. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150920, 2022.

TAIRA, K. et al. Urinary concentrations of neonicotinoid insecticides were related to renal tubular dysfunction and neuropsychological complaints in Dry-zone of Sri Lanka. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

UPL. **Imidagold 700 wg.** Disponível em: <https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/imidagold700wg150218.pdf>. Acesso em: 20 out. 2022.

VILA-FARRÉ, M.; RINK, J. C. The ecology of freshwater planarians. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2018. v. 1774p. 173–205.

WU, J. P.; LI, M. H. The use of freshwater planarians in environmental toxicology studies: Advantages and potential. **Ecotoxicology and Environmental Safety, Academic Press. 15 out. 2018.**

YUAN, T.-H. et al. Characteristics of neonicotinoid and metabolite residues in Taiwanese tea leaves. **Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 1, p. 341–349, 2022.

9. CONCLUSÃO GERAL

Embora muitas informações e características apresentadas neste estudo sejam comumente relacionados aos impactos de agrotóxicos no ecossistema, o assunto tema não está nulo, uma vez que a demanda mundial requer eficácia e eficiência produtiva, que, estrategicamente, se vincula a diversos pesticidas, incluindo os pertencentes à classe dos NNIs, com vários produtos comerciais. Neste sentido, delinear os potenciais efeitos de IMI sobre organismos não alvo terrestres e aquáticos contribui com a ciência da ecotoxicologia no âmbito da preservação ambiental e de espécies importantes para a cadeia trófica.

Salienta-se que as abelhas nativas mostraram diferentes sensibilidades ao IMI e ao inseticida padrão de referência DM. Como há escassez de dados científicos em relação a esses polinizadores (*T. weyrauchi*, *T. fiebrigi*, *T. angustula* e *T. clavipes*), este estudo passa a adicionar importantes informações, tendo em vista que IMI afeta a sobrevivência desses invertebrados a baixas concentrações, inclusive aquelas previstas para ser encontradas no ambiente. No que tange à espécie *G. tigrina*, não houve mortalidade. No entanto, foram evidenciados danos em parâmetros comportamentais (locomoção), fisiológicos (regeneração) e reprodução (fecundidade). O comportamento tem significativo papel na sobrevivência de diversos animais face a interações com predadores e outros níveis tróficos, com implicações ecológicas (LÓPEZ et al., 2021). Além disso, a regeneração e a reprodução das planárias se refletem na conservação e no equilíbrio do ecossistema (SILVA et al., 2021).

10. REFERÊNCIAS

A.B.E.L.H.A. **Manejo produtivo**. Disponível em: <<https://abelha.org.br/manejo-produtivo/>>. Acesso em: 27 jul. 2022b.

A.B.E.L.H.A. **Preciso de autorização para a instalação de ninhos armadilha?** Disponível em: <<https://abelha.org.br/faq/preciso-de-autorizacao-para-a-instalacao-de-ninhos-armadilha/>>. Acesso em: 27 jul. 2022a.

AL-KHAZRAJI, H. I.; THAKIR, B. M.; EL-HADEETI, S. A. K. Bioindicators of pesticides pollution in the aquatic environment: A review. **Plant Archives**, v. 20, n. February, p. 1607–1618, 2020.

ALBERTO, C. et al. Meliponário Didático-Pedagógico. Universidade Estadual de Montes Claros. **Realização**, p. 2011, 2012.

ALEXANDER, A. C.; HEARD, K. S.; JOSEPH M. CULP. Emergent body size of mayfly survivors. **Freshwater Biology**, v. 53, n. 1, p. 171–180, 2008

ALMEIDA, V. S. D. et al. Use of genetically modified crops and pesticides in Brazil: growing hazards.pdf. **Science and Public Health**, p. 114442, 2017.

AMA. **Como instalar ISCA PET do jeito certo? 2023**. YouTube. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=A-ypaaLZSN4>. Acesso em: 28 jan. 2023.

ANDERSON, J. C.; DUBETZ, C.; PALACE, V. P. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. **Science of the Total Environment**, 1 fev. 2015.

ANDERSON, N. L.; HARMON-THREATT, A. N. Chronic contact with imidacloprid during development may decrease female solitary bee foraging ability and increase male competitive ability for mates. **Chemosphere**, v. 283, 1 nov. 2021.

ASKIE, L.; GHERSI, D.; SIMES, J. Metodologia da pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de um protocolo de pesquisa. **Australian Journal of Physiotherapy**, v. 52, n. 4, p. 237–239, 2006.

ASSALIN, M. R. et al. Preliminary Studies: Applied to Nanoencapsulation of Neonicotinoid Insecticide: Thiamethoxam. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, p. 261–264, 2017.

ASSIS, J. C. et al. Are native bees in Brazil at risk from the exposure to the neonicotinoid imidacloprid? **Environmental Research**, v. 212, n. March, 2022.

ASSIS, J. C. et al. The influence of climate and seasonality on bee communities: a complementary method for bee sampling in forest patches of an anthropic matrix. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, p. 711–723, 2021.

ASTM. Preparation of ASTM “medium-hard” synthetic water. Standard Practice for Conducting Acute Toxicity Tests with Fishes, Macroinvertebrates and Amphibians. **American Standards for Testing and Materials**. Philadelphia, 1980.

AXEL, D.; DEVILLERS., J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. **França: Insec Nicotinic Acetylcholine Receptors**, v. 683, p. 85–91, 2019.

AZEVEDO-PEREIRA, H. M. V. S.; LEMOS, M. F. L.; SOARES, A. M. V. M. Effects of imidacloprid exposure on *Chironomus riparius* Meigen larvae: Linking acetylcholinesterase activity to behaviour. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1210–1215, 2011.

BANDEIRA, F. O. et al. Chronic effects of clothianidin to non-target soil invertebrates: Ecological risk assessment using the species sensitivity distribution (SSD) approach. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, n. 5, 2021.

BARBOSA, R. S. et al. Eco(toxicological) Assessment of the Neonicotinoid Formulation Actara ® Using Planarian *Girardia tigrina* as Model Organism. **Pollutants**, p. 546–555, 2022.

BARTLETT, A. J. et al. Acute and chronic toxicity of neonicotinoid and butenolide insecticides to the freshwater amphipod, *Hyaella azteca*. **Elsevier**, v. 175, p. 215–223, 2019.

BASRAWI, F. et al. Engineering economic analysis of meliponiculture in Malaysia considering current market price. **MATEC Web of Conferences**, v. 131, 2017.

BASS, C. et al. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 78–87, 2015.

BB. Evolução histórica do crédito rural. **Revista da Política Agrícola**, v. 13, p. 10–17, 2004.

BECKER, F. G. et al. Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas - meliponíneos. **Syria Studies**, v. 7, n. 1, p. 37–72, 2015.

BEENTJES, K. K. et al. Environmental DNA metabarcoding reveals comparable responses to agricultural stressors on different trophic levels of a freshwater community. **Molecular Ecology**, v. 1, 2021.

BERHEIM, E. H. et al. Effects of Neonicotinoid Insecticides on Physiology and Reproductive Characteristics of Captive Female and Fawn White-tailed Deer. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.

BELCHIOR, D. C. V. et al. Impactos de Agrotóxicos no Meio Ambiente. **Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília**, v. 34, n. 1, p. 135–151, 2017.

BENDINI, N. et al. Meliponário didático: a extensão universitária como uma estratégia para a conservação das abelhas sem ferrão no semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Extensão Universitária**, p. 277–288, 2020.

BERNARDES, R. C. et al. Toxicological assessment of agrochemicals in bees using machine learning tools. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, p. 127344, fev. 2022.

BIESMEIJER, J. C.; SLAA, J. Field trial of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against Varroa destructor. **Apidologie**, v. 38, p. 67–76, 2007.

BONMATIN, J. M. et al. Residues of neonicotinoids in soil, water and people's hair: A case study from three agricultural regions of the Philippines. **Science of the Total Environment**, v. 757, p. 143822, 2021.

BORSUAH, J. F. et al. Literature Review: Global Neonicotinoid Insecticide Occurrence in Aquatic Environments. **Water**, v. 12, n. 3388, p. 17, 2020.

BOTELHO, M. G. L. et al. Pesticides in agriculture: agents of environmental damage and the search for sustainable agriculture. **Society and Development**, v. 9, n. 8, p. 1–25, 2020.

BRAIN, R. A.; PROSSER, R. S. Human induced fish declines in North America, how do agricultural pesticides compare to other drivers? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 44, p. 66010–66040, 2022.

BRASIL. **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do>>. Acesso em: 10 out. 2022.

BRASIL; IBAMA. **Perfil Ambiental - Imidacloprido**. Disponível em: <http://ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/perfis-ambientais/2019/PerfilAmbiental-Imidacloprido-02_10_2019.pdf>. Acesso em: 10 out. 2022.

BRASIL. Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989. p. 1–7, 1989.

BRASIL; IBAMA. Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas. **Ibama - MMA**, p. 24, 2019b.

BRASIL; MAPA; EMBRAPA. Embrapa em Números. **Gerência de Comunicação**, p. 140, 2019.

BRASIL. RESOLUÇÃO CONAMA nº 346, de 16 de agosto de 2004 Publicada no DOU n. p. 235–236, 2004.

BRASÍLIA. **Lei Federal nº 8.171, de 17 de janeiro de 1991**. Dispõe sobre a política agrícola. Brasília: Casa Civil, [1991]. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8171.htm#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20pol%C3%ADtica%20agr%C3%ADcola.&text=Art.,das%20atividades%20pesqueira%20e%20florestal.>. Acesso em: 22 nov. 2022.

BRAUN, M.; GRONEBERG, D. A.; KLINGELH, D. Neonicotinoids: A critical assessment of the global research landscape of the most extensively used insecticide. **Environmental Research**, v. 213, n. June, 2022.

BUCHMANN; NABHAN. The pollination crisis - The plight of the honey bee and the decline of other pollinators imperils future harvests. **Sciences**, v. 36, n. 4, p. 22–27, 1996.

BUTCHERINE, P. et al. Acute toxicity, accumulation and sublethal effects of four neonicotinoids on juvenile Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). **Chemosphere**, v. 275, 2021.

BUTTARELLI, F. R.; PELLICANO, C.; PONTIERI, F. E. Neuropharmacology and behavior in planarians: Translations to mammals. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 147, n. 4, p. 399–408, 2008.

CABB. **Agrochemicals in Organic Food Production...Toward a Sustainable Future View Larger Image**. Disponível em: <<https://cabb-chemicals.com/role-agrochemicals-increasing-organic-food-production/>>. Acesso em: 10 out. 2022.

CAHILL, M. et al. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 86, n. 4, p. 343–349, 1996.

CALZA, P. et al. Integrated approach for the analysis of neonicotinoids in fruits and food matrices. **Food Chemistry**, v. 372, n. September 2021, p. 131153, 2022.

CAMARGO, A. J. A. et al. Coleções Entomológicas. v. 1, n. 1, p. 118, 2015.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente**, n. c, p. 1–40, 2003.

CAMPBELL, K. S. et al. Detection of imidacloprid and metabolites in Northern Leopard frog (*Rana pipiens*) brains. **Science of The Total Environment**, v. 813, p. 152424, 2021.

CARNEIRO, F. F. et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Escola Pol ed. Rio de Janeiro/São Paulo: Expressão Popular, 2018. v. 161

CARNEIRO, L. S. et al. Acute oral exposure to imidacloprid induces apoptosis and autophagy in the midgut of honey bee *Apis mellifera* workers. **Science of The Total Environment**, v. 815, p. 152847, 2022.

CARTAXO, P. H. DE A. et al. *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Diptera: Tephritidae): Riscos para a Fruticultura Brasileira. **Research, Society and Development**, v. 1, n. 8, p. 1–20, 2019.

CARVALHO-ZILSE, G. A. et al. Apostila - Criação de abelhas sem ferrão. **IBAMA**, p. 1–17, 2005.

CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Neuroactive Insecticides: Targets, Selectivity, Resistance, and Secondary Effects. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 99–117, 2013.

CASTILHOS, Dayson et al. Bee colony losses in Brazil: a 5-year online survey. **Apidologie**, [s. l.], v. 50, p. 263-272, maio. 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13592-019-00642-7>>. Acesso em: 05 jan. 2021.

CAVALLARO, M. C. et al. Neonicotinoids and other agricultural stressors collectively modify aquatic insect communities. **Chemosphere**, v. 226, p. 945–955, 2019.

CHAM, K. O. et al. Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Stingless Bees. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 1, p. 36–48, 2019.

CHAUZAT, M.-P. et al. A Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 253–262, 2009.

CHC. **Restriction of Neonicotinoid Uses to Take Effect in 2021**. Disponível em: <<https://www.hortcouncil.ca/en/restriction-of-neonicotinoid-uses-to-take-effect-in-2021/>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

CIRCACBC. **Review of the first Surface Water Watch List: discussion on the latest proposal for updating the list**. Disponível em: <<https://circabc.europa.eu>>. Acesso em: 22 nov. 2022.

CLAUDE AMIARD-TRIQUET. Behavioral disturbances: the missing link between sub_organismal and supra-organismal responses to stress? Prospects based on aquatic re_search. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 15, n. 1, p. 87–110, 2009.

CLAUDIANOS, C. et al. A Deficit of Detoxification Enzymes: Pesticide Sensitivity and Environmental Response in the Honeybee. **Insect Molecular Biology**, v. 15, n. 5, p. 36–615, 2006.

CNA. **Fundamentals of planarian regeneration**. Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/artigos/agrotóxicos-são-necessário-ou-não>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

CONTRERA, F. A. L.; VENTURIERI, G. C. **Revisão das Interações Entre Forídeos (Diptera : Phoridae) e Abelhas Indígenas Sem Ferrão (Apidae: Meliponini), e Técnicas de Controle**. Anais do VI Encontro sobre: Abelhas. 2008. Ribeirão Preto - SP, Brasil. **Anais...2008**

COSSI, P. F. et al. Toxicity evaluation of the active ingredient acetamiprid and a commercial formulation (Assail® 70) on the non-target gastropod *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 192, n. October 2019, p. 110248, 2020.

COSTA, G. L. DE L.; BARCHUK, A. R.; DO VALLE TEIXEIRA, I. R. Effects of the Neonicotinoid Imidacloprid on the Feeding Behavior of *Melipona quadrifasciata*. **Revista Agrogeoambiental**, v. 12, n. 1, 2020.

COSTA, L. **Identificação de abelhas sem ferrão, para resgate em áreas de supressão florestal (ITV)**. Belém: Instituto Tecnológico Vale, 2019.

COSTANZA, R. et al. The value of the world' s ecosystem services and natural capital. **Nature**, v. 387, p. 253 – 260, 1996.

DECOURTYE; DEVILLERS. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. **Adv Exp Med Biol**, v. 683, p. 85–91, 2010.

DENG, Y. et al. Enantioselective bioaccumulation and toxicity of rac-sulfoxaflor in zebrafish (*Danio rerio*). **Science of The Total Environment**, v. 817, p. 153007, 2022.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81–106, 2007.

DI-PAOLA, D. et al. Combined Effects of Potassium Perchlorate and a Neonicotinoid on Zebrafish Larvae (*Danio rerio*). **Toxics**, v. 10, n. 5, 2022.

DIYPESTCONTROL. **Imidacloprid**. Disponível em: <<https://diypestcontrol.com/active-ingredients/imidacloprid-insecticide>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

DORNELAS, A. S. P. et al. Effects of two biopesticides and salt on behaviour, regeneration and sexual reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, 15 fev. 2021.

DORNELAS, A. S. P. et al. Lethal and sublethal effects of the saline stressor sodium chloride on *Chironomus xanthus* and *Girardia tigrina*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 34223–34233, 1 set. 2020.

DORNELAS, A. S. P. et al. The sexual reproduction of the non-target planarian *Girardia tigrina* is affected by ecologically relevant concentrations of difenoconazole: new sensitive tools in ecotoxicology. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 0123456789, 2022.

EC. **Neonicotinoids Emergency authorisations in the Member States Some facts about neonicotinoids**. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/neonicotinoids_en>. Acesso em: 23 out. 2022.

EC. **Neonicotinoids: Some facts about neonicotinoids**. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/approval_active_substances%0A/approval_renewal/neonicotinoids_en>. Acesso em: 10 nov. 2022a.

EC. **Some facts about neonicotinoids**. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/neonicotinoids_en#current-status-of-the-neonicotinoids-in-the-eu>. Acesso em: 10 nov. 2022.

EFSA. **Bee health**. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bee-health>>. Acesso em: 22 nov. 2022b.

EFSA. **Pesticides**. Disponível em: <Pesticides | EFSA (europa.eu)>. Acesso em: 10 nov. 2022.

ELBERT, A. et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, v. 64, n. 11, p. 1099–1105, 2008.

EMATER. **Manual da Atividade Apícola**. Disponível em: <<https://www.emater.mg.gov.br/download.do?id=47194>>. Acesso em: 2 jan. 2022.

EMBRAPA. ABC de Agricultura Familiar. v. 3000, n. 61, p. 1–5, 2009.

EMBRAPA. Doenças e Inimigos Naturais das Abelhas. **Embrapa**, p. 66, 2004.

EMBRAPA. **Agricultura e Meio Ambiente**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/13048/agricultura-e-meio-ambiente-tendencias>>. Acesso em: 27 jul. 2022.

EMBRAPA. **Alimentação artificial de colônias**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355163/39571288/Alimentacao+artificial+de+colonias.pdf/fa5b5a2f-7efa-bb52-c01b-d312b4f0bad2>>. Acesso em: 23 out. 2022.

EMBRAPA. Criação de abelhas-sem-ferrão. **Embrapa**, p. 1–32, 2022b.

EMBRAPA. **Polinização na Agricultura**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/meio-ambiente/abelhas-nativas/criacao>>. Acesso em: 27 jul. 2022b.

ENSLEY, S. M. Neonicotinoids. **Veterinary Toxicology**, p. 596–598, 2012.

EPA. **Basic Information about Pesticide Ingredients**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>>. Acesso em: 23 out. 2022.

EPA. **Imidacloprid**. Disponível em: <https://ordspub.epa.gov/ords/pesticides/f?p=CHEMICALSEARCH:3:::21,3,31,7,12,25:P3_XCHEMICAL_ID:2571>. Acesso em: 23 out. 2022.

EPA. **Neonicotinoid Pesticides Draft Biological Evaluation Frequently Asked Questions**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/pesticides/epa-finalizes-biological-evaluations-assessing-potential-effects-three-neonicotinoid>>. Acesso em: 23 out. 2022a.

EPPO. Side-effects on honeybees. **EPPO Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 313–319, 2010.

ESKENAZI, B.; BRADMAN, A.; CASTORINA, R. Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. SUPPL. 3, p. 409–419, 1999.

EUROPEAN PARLIAMENT. **The use of pesticides in developing countries and their impact on health and the right to food.** Disponível em: <[https://www.europarl.europa.eu/thinktank/en/document/EXPO_STU\(2021\)653622](https://www.europarl.europa.eu/thinktank/en/document/EXPO_STU(2021)653622)>. Acesso em: 15 dez. 2022.

FAN, L. et al. Comparative analysis on the photolysis kinetics of four neonicotinoid pesticides and their photo-induced toxicity to *Vibrio fischeri*: Pathway and toxic mechanism. **Chemosphere**, v. 287, n. P3, p. 132303, 2022.

FERREIRA-JUNIOR, D. F. et al. Effects of a Thiamethoxam-Based Insecticide on the Life History of *Chironomus xanthus*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, n. 11, 1 nov. 2018.

FLETCHER, M. T. et al. Stingless bee honey, a novel source of trehalulose: a biologically active disaccharide with health benefits. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

FORJAZ, Giulia. [Abelhas Nativas]. WhatsApp. 12 set 2022. 10:09. 20 mensagens do Whatsapp.

FRANCISCO, C. F. O. et al. Estrutura genética de *T. angustula*. Sydney, NSW 2006, Austrália Machine Translated by Google. 2006.

FREITAS, P. V. D. X. DE et al. Noções básicas para criação de abelhas nativas: alimentação e multiplicação. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e44942815, 2020.

FU, Z. et al. Impact of imidacloprid exposure on the biochemical responses, transcriptome, gut microbiota and growth performance of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, n. PB, p. 127513, 2022.

GALLAI, N. et al. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, v. 68, n. 3, p. 810–821, 2009.

GARIBALDI, L. A. et al. From research to action: Enhancing crop yield through wild pollinators. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 12, n. 8, p. 439–447, 2014.

GASPARIC, H. V.; LEMIC, D.; BAZOK, R. Neonicotinoid Residues in Earthworms and Ground Beetles under Intensive Sugar Beet Production: Preliminary Study in Croatia. **Agronomy**, v. 12, n. 9, p. 0–7, 2022.

GIANNINI, T. C. et al. The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 849–857, 2015.

GONÇALVES, M. S. Uso sustentável de pesticidas. Análise comparativa entre a União Europeia e o Brasil. **Universidade de Lisboa Faculdade de Ciências**, 2016.

GRÜNEWALD, B.; SIEFERT, P. Acetylcholine and its receptors in honeybees: Involvement in development and impairments by neonicotinoids. **Insects**, v. 10, n. 12, 2019.

GUO, L. et al. *Oligotrophic bacterium Hymenobacter latericoloratus* CGMCC 16346 degrades the neonicotinoid imidacloprid in surface water. **AMB Express**, v. 10, n. 1, 2020.

GUPTA, S. et al. Leaching behavior of imidacloprid formulations in soil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, n. 4, p. 502–508, 2002.

HAGEN, M. et al. Biodiversity, Species Interactions and Ecological Networks in a Fragmented World. 1. ed. **Elsevier Ltda**, 2012. v. 46

HAGSTROM, D.; COCHET-ESCARTIN, O.; COLLINS, E. S. Planarian brain regeneration as a model system for developmental neurotoxicology. **Regeneration**, p. 65–77, 2016.

HALLMANN, C. A. et al. Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 341–343, 2014.

HANAZATO, T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: An ecological perspective. **Environmental Pollution**, v. 112, n. 1, p. 1–10, 2001.

HAYASAKA, D. et al. Cumulative ecological impacts of two successive annual treatments of imidacloprid and fipronil on aquatic communities of paddy mesocosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 355–362, 2012.

HELLOU, J. Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2011.

HERBERT, L. T. et al. Acute neurotoxicity evaluation of two anticholinesterasic insecticides, independently and in mixtures, and a neonicotinoid on a freshwater gastropod. **Chemosphere**, v. 265, 2021.

HLADIK, M. L.; MAIN, A. R.; GOULSON, D. Environmental Risks and Challenges Associated with Neonicotinoid Insecticides. **Environmental Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3329–3335, 2018.

HS, P.; SN, S. Botanicals: Potential plant protection chemicals: A review. **International Journal of Chemical Studies**, v. 6, n. 3, p. 217–222, 2018.

IBAMA. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores. **IBAMA**, p. 298, 2019a.

IBAMA. Avaliação de risco ambiental do ingrediente ativo imidacloprido para insetos polinizadores. **Instituto Brasileiro De Recursos Naturais Renováveis – Ibama**, p. 1–298, 2019b. Acesso em: 11 nov. 2022.

IBAMA. **Avaliação ambiental para registro de agrotóxicos, seus componentes e afins de uso agrícola.** Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/avaliacao-ambiental/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola#:~:text=A obrigatoriedade de uma avaliação,exigências relativas ao meio ambiente.>>. Acesso em: 27 jul. 2022b.

IBAMA. **Reavaliação Ambiental.** Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/reavaliacao-ambiental#>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SEGUI, L.; FRANCOY, T. M. O Desaparecimento das Abelhas Melíferas (*Apis mellifera*) e as Perspectivas do Uso de Abelhas Não Melíferas na Polinização. **Resumo The Disappearing of Honey Bees (*Apis mellifera*) and the Perspectives of the Use of Non Honey Bees in Pollination Abstract.** p. 1–14, 2012.

INOUE, T. et al. Planarian shows decision-making behavior in response to multiple stimuli by integrative brain function. **Zoological Letters**, v. 1, n. 1, p. 1–15, 2015.

IRAC. **A global response to global problem.** Disponível em: <<https://irac-online.org/>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

IRAC. IRAC Guidelines for Management of Resistance to Group 4 insecticides. **IRAC Sucking Pest Working Group**, n. December 2014, p. 1–4, 2015.

ISMAEL, L. L.; ROCHA, E. M. R. Estimate of the contamination of groundwater and surface water due to agrochemicals in the sugar-alcohol area, santa rita, state of paraíba, Brazil. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 24, n. 12, p. 4665–4676, 2019.

JACOB, C. R. DE O. et al. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224, p. 65–70, 1 jun. 2019.

JACTEL, H. et al. Alternatives to neonicotinoids. **Environ Int**, v. 129, p. 423–429, 2019.

JESCHKE, P. et al. Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids. **J. Agric. Food Chem**, v. 59, n. 7, p. 2897 – 2908, 2011.

JESCHKE, P.; NAUEN, R. Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry. **Pest Management Science**, v. 64, n. 11, p. 1084–1098, 2008.

JOHANSEN CARL, F MAYER DANIEL, C A JOHANSEN, J. C. L. Pollinator protection: a bee & pesticide handbook. **WicwasPress**, p. 21, 1990.

KALUZA, B. F. et al. Social bees are fitter in more biodiverse environments. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W.; WASER, N. M. Endangered mutualisms: The

conservation of plant-pollinator interactions. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 29, n. November, p. 83–112, 1998.

KEVAN, P. G.; VIANA, B. F. The global decline of pollination services, **Biodiversity**, v. 4, n. 4, p. 3–8, 2003.

KLEIN, A. M. et al. Insect pollination of crops in Brazil. **Nature Conservation and Landscape Ecology, Albert-Ludwigs University Freiburg, Freiburg, Germany**, n. February, p. 149, 2020.

KNAKIEVICZ, T. et al. Reproduction modes and life cycle of freshwater planarians (Plathyhelminthes, Tricladida, Paludicula) from Southern Brazil. **Invertebrate Biology**, v. 125, n. 3, p. 212–221, 2006.

KOBASHI, K. et al. Comparative ecotoxicity of imidacloprid and dinotefuran to aquatic insects in rice mesocosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, n. December 2016, p. 122–129, 2017.

KUMAR, R. N.; SOLANKI, R.; KUMAR, J. I. Spatial Variation in Phytoplankton Diversity in the Sabarmati River At. v. 6, p. 13–28, 2012.

LEMANSKI, N. J.; FEFFERMAN, N. H. Coordination between the Sexes Constrains the Optimization of Reproductive Timing in Honey Bee Colonies. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–8, 2017.

LEWIS, K. A. et al. Imidacloprid (Ref: BAY NTN 33893). **An International Journal**, p. 1050–1064, 2021.

LI, F.; LIN, X.; LIU, J. Variability of urinary biomarkers of neonicotinoid insecticides in Chinese population: Implications for human exposure assessment. **Chemosphere**, v. 307, n. P1, p. 135705, 2022.

LI, X. et al. Neonicotinoid insecticides promote breast cancer progression via G protein-coupled estrogen receptor: In vivo, in vitro and in silico studies. **Environment International**, v. 170, n. October, p. 107568, 2022b.

LI, Z. M.; ROBINSON, M.; KANNAN, K. An assessment of exposure to several classes of pesticides in pet dogs and cats from New York, United States. **Environment International**, v. 169, n. July, p. 107526, 2022.

LIAO, Y. et al. MIL-101(Cr) based d-SPE/UPLC-MS/MS for determination of neonicotinoid insecticides in beverages. **Microchemical Journal**, v. 175, n. November 2021, p. 107091, 2022.

LOON, S. VAN et al. Long - Term Effects of Imidacloprid, Thiacloprid, and Clothianidin on the Growth and Development of *Eisenia andrei*. **Environmental Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 1686–1695, 2022.

LÓPEZ, A. M. C. et al. Behavioral parameters of planarians (*Girardia tigrina*) as fast screening, integrative and cumulative biomarkers of environmental contamination:

Preliminary results. **Water (Switzerland)**, v. 13, n. 8, 2 abr. 2021.

LÓPEZ, A. M. C. et al. Exposure to Roundup® affects behaviour, head regeneration and reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Science of the Total Environment**, v. 675, p. 453–461, 20 jul. 2019.

LOURENCAO, A. L.; NAGAI, H. Outbreaks of *Bemisia tabaci* in Sao Paulo State, Brazil. **Bragantia**, v. 53, n. 1, p. 53–59, 1994.

MA, Y. et al. A novel, efficient and sustainable magnetic sludge biochar modified by graphene oxide for environmental concentration imidacloprid removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, n. December 2020, 2021.

MA, S. et al. A combination of *Tropilaelaps mercedesae* and imidacloprid negatively affects survival, pollen consumption and midgut bacterial composition of honey bee. **Chemosphere**, v. 268, 2021.

MAGALHÃES, D. DE P.; FILHO, A. DA S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras.** 2008.

MALAGODI-BRAGA, K. S.; KLEINERT, A. DE M. P. Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? **Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses?**, v. 55, n. 7, p. 771–773, 2004.

MALHOTRA, N. et al. Physiological effects of neonicotinoid insecticides on non-target aquatic animals—an updated review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, 2021.

MALTBY, L. et al. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 361–368, 2002.

MANDAL, A.; SINGH, N.; PURAKAYASTHA, T. J. Characterization of pesticide sorption behaviour of slow pyrolysis biochars as low cost adsorbent for atrazine and imidacloprid removal. **Science of the Total Environment**, v. 577, p. 376–385, 2017.

MATSUDA, K. et al. Matsuda-2001-Neonicotinoids-insecticides-acting-. v. 22, n. 11, p. 573–580, 2001.

MELO, B. S. et al. Is there a common mechanism of neonicotinoid resistance among insects? Preliminary results show that F1 larvae of pre-exposed *Chironomus xanthus* are more tolerant to imidacloprid. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 6, n. February, p. 100073, 2022.

MEIKLE, W. G. et al. Sublethal concentrations of clothianidin affect honey bee colony growth and hive CO2 concentration. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–18, 2021.

MELO, B. S. et al. Is there a common mechanism of neonicotinoid resistance among insects? Preliminary results show that F1 larvae of pre-exposed *Chironomus xanthus* are

more tolerant to imidacloprid. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 6, n. February, p. 100073, 2022.

MELO, B. S. et al. The multigenerational effects of clothianidin on *Chironomus xanthus*: Larvae exposed to this acetylcholine super agonist show no clear resistance. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 245, n. September, p. 1–8, 2022.

MIRANDA, E. A. et al. Phylogeography of *Partamona rustica* (Hymenoptera, Apidae), an endemic stingless bee from the neotropical dry forest diagonal. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–19, 2016.

MMA. Polinizadores e Pesticidas. **MMA**, p. 112, 2012.

MORRISSEY, C. A. et al. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. **Environment International**, 1 jan. 2015.

NAUEN, R. et al. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 76, n. 2, p. 55–69, 2003.

NAUEN, R.; KOOB, B.; ELBERT, A. Antifeedant effects of sublethal dosages of imidacloprid on *Bemisia tabaci*. **Entomologia. Experimentalis et Applicata**, v. 88, n. 3, p. 287–293, 1998.

NAUMANN, T. et al. Occurrence and ecological risk assessment of neonicotinoids and related insecticides in the Bohai Sea and its surrounding rivers, China. **Water Research**, v. 209, n. November 2021, 2022.

NEVES, P. D. M. et al. Poisoning by agricultural pesticides in the State of Goiás, Brazil, 2005-2015: Analysis of records in official information systems. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 25, n. 7, p. 2743–2754, 2020.

NEWMARK, P. A.; ALVARADO, A. S. Not your father's planarian: a classic model enters the era. **Nature**, v. 2, p. 210 - 219, 2002.

NIÑO, E. L. **Decifrando o misterioso declínio das abelhas**. Disponível em: <<https://www.universityofcalifornia.edu/news/deciphering-mysterious-decline-honey-bees>>. Acesso em: 9 nov. 2022.

NISHIMURA, K. et al. Reconstruction of dopaminergic neural network and locomotion function in planarian regenerates. **Developmental Neurobiology**, v. 67, n. 8, 2007.

NIVA, C. C.; BROWN, G. G. Ecotoxicologia Terrestre Métodos e Aplicações dos Ensaíos com Oligoquetas. **Embrapa**, 2019.

NOGUEIRA, D. S.; OLIVEIRA, F. F. DE; OLIVEIRA, M. L. DE. Revision of the *Tetragona clavipes* (Fabricius, 1804) species-group (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Zootaxa**, v. 5119, n. 1, 2022.

OECD. Honeybees, Acute Contact Toxicity Test. **OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS**, p. 7, 1998.

OECD. **Guidelines for Testing of Chemicals Number 214. Honeybees, Acute Oral Toxicity Test**. Disponível em: <<https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/work-related-beespollinators.htm>>. Acesso em: 14 dez. 2022.

OECD. OECD GD 245: Honeybees (*Apis mellifera*), chronic oral toxicity test (10-day feeding). **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, n. October, p. 1–7, 2017.

OFOEGBU, P. U. et al. Combined effects of NaCl and fluoxetine on the freshwater planarian, *Schmidtea mediterranea* (Platyhelminthes: Dugesiiidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 11, p. 11326–11335, 1 abr. 2019b.

OFOEGBU, P. U. et al. Effects of low concentrations of psychiatric drugs (carbamazepine and fluoxetine) on the freshwater planarian, *Schmidtea mediterranea*. **Chemosphere**, v. 217, p. 542–549, 1 fev. 2019a.

OFOEGBU, P. U. et al. Toxicity of tributyltin (TBT) to the freshwater planarian *Schmidtea mediterranea*. **Chemosphere**, v. 148, p. 61–67, 2016a.

OLIVEIRA, A. P. M. DE; VENTURIERI, G. C.; CONTRERA, F. A. L. Utilização de diferentes vinagres no controle de forídeos parasitas de meliponíneos. **Embrapa**, 2013.

OLIVEIRA, R. C. et al. Como obter enxames de abelhas sem ferrão na natureza? **Mensagem Doce**, v. 100, p. 1–7, 2012.

OSBORNE, J.L.; WILLIAMS, I.H.; CORBET, S. A. . Bees, pollination and habitat change in the European Community. **Bee World**, v. 72, p. 99–116, 1991.

OVIEDO, N. J. et al. Planarians: A versatile and powerful model system for molecular studies of regeneration, adult stem cell regulation, aging, and behavior. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 3, n. 10, p. 1–8, 2008.

PAGANO, M.; STARA, A.; ALIKO, V. Impact of Neonicotinoids to Aquatic Invertebrates — In Vitro Studies on *Mytilus galloprovincialis*: A Review. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 8, n. 10, p. 1–14, 2020.

PAN. **Our work on neonicotinoids (neonics)**. Disponível em: <https://www.pan-uk.org/about_neonicotinoids/>. Acesso: 10 nov. 2022.

PEARSON, B. J. Finding the potency in planarians. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 1–4, 2022.

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. DA. Agrochemical regulation in Brazil: market power vs. Health and environment defense. **Revista de Economia**, v. 36, p. 27–48, 2010.

PERRY, T. et al. Role of nicotinic acetylcholine receptor subunits in the mode of action of neonicotinoid, sulfoximine and spinosyn insecticides in *Drosophila melanogaster*.

- Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 131, n. January, p. 103547, 2021.
- PEREIRA, F. DE M.; SOUZA, B. DE A.; LOPES, M. T. DO R. Instalação e manejo de meliponário. **Embrapa**, p. 26, 2010.
- PESTANA, J. L. T.; OFOEGBU, P. U. Ecotoxicity Assays Using Freshwater Planarians. **Methods Mol Biol**, v. 2240, p. 125–137, 2021.
- PESTANA, J. L. T. et al. Structural and functional responses of benthic invertebrates to imidacloprid in outdoor stream mesocosms. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 8–9, p. 2328–2334, 2009.
- PESTICIDY-RU. **Неоникотиноиды**. Disponível em: <https://www.pesticidy.ru/group_substances/neonicotinoids>. Acesso em: 23 out. 2022.
- PIETRZAK, D. et al. Pesticides from the EU First and Second Watch Lists in the water Environment. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 47, p. 1–13, 2019.
- PIOVESAN, B. et al. Effects of insecticides used in strawberries on stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca fiebrigi* (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 34, p. 42472–42480, 2020.
- PIRES, C. S. S. et al. Weakness and collapse of bee colonies in Brazil: Are there cases of CCD? **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422–442, 2016.
- PISA, L. W. et al. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 68–102, 2014.
- PMRA. **Re-evaluation Decision RVD2021-05, Imidacloprid and Its Associated End-use Products**. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/reports-publications/pesticides-pest-management/decisions-updates/reevaluation-decision/2021/imidacloprid.html>>. Acesso em: 22 dez. 2022.
- POIRIER, L. et al. Planarian, an emerging animal model for toxicology studies. **Medecine/Sciences**, v. 35, n. 6–7, p. 544–548, 1 jun. 2019.
- PONCIANO, G. F.; MAY, D. Pólen coletado por *Tetragonisca angustula* em meliponários de zonas urbanas de Curitiba, Paraná. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 3, p. 326–331, 2021.
- POTTS, S. G. et al. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 1, p. 15–22, 2010b.
- POTTS, S. G. et al. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 25, n. 6, p. 345–353, 2010a.
- POTTS, S. G. et al. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**, v. 540, n. 7632, p. 220–229, 2016.

PUGLIS, H. J.; BOONE, M. D. Effects of technical-grade active ingredient vs. commercial formulation of seven pesticides in the presence or absence of UV radiation on survival of green frog tadpoles. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 1, p. 145–155, 2011.

RABY, M. et al. Acute toxicity of 6 neonicotinoid insecticides to freshwater invertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1430–1445, 2018.

RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. . K.-G. A. Ecologia nutricional de abelhas sociais: Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. **Fundação Oswaldo Cruz**, p. 225–252, 1991.

RATNIEKS, F. L. W.; CARRECK, N. L. Clarity on honey bee collapse? **Science**, v. 327, n. 5962, p. 152–153, 2010.

RAYMANN, K. et al. Imidacloprid decreases honey bee survival rates but does not affect the gut microbiome. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 13, 2018.

REDDIEN, P. W.; SÁNCHEZ ALVARADO, A. Fundamentals of planarian regeneration. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 20, n. May, p. 725–757, 2004.

REDDIEN, P. W. The cellular and molecular basis for planarian regeneration. **Cell**, v. 175, n. 2, p. 327–345, 2018.

REIS, E. B. et al. Responses of Freshwater Planarian *Girardia tigrina* to Fipronil-Based Insecticide: Survival, Behavioral and Physiological Endpoints. **Diversity**, v. 14, n. 9, p. 698, 2022.

RELYEA, R.; HOVERMAN, J. Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. **Ecology Letters**, v. 9, p. 1157–1171, 2006.

RODRIGUES, A. C. M. et al. Behavioural responses of freshwater planarians after short-term exposure to the insecticide chlorantraniliprole. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 371–376, 2016.

RODRIGUES, M. et al. FLIGHT ACTIVITY OF *Tetragona clavipes* (FABRICIUS , 1804) (Hymenoptera , Apidae , Meliponini) At the São Paulo University Campus in Ribeirão Preto. **Bioscience Journal, Uberlândia**, v. 23, n. Supplement 1, p. 118–124, 2007.

ROESSINK, I. et al. The neonicotinoid imidacloprid shows high chronic toxicity to mayfly nymphs. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, n. 5, p. 109–1100, 2013.

ROSA, J. M. et al. Disappearance of pollinating bees in natural and agricultural systems: Is there an explanation? **Revista de Ciências Agroveterinarias**, v. 18, n. 1, p. 154–162, 2019.

ROSSI, L. et al. Planarians, a tale of stem cells. **Cell Mol Life Sci**, v. 65, n. 1, p. 16–23, 2008.

ROUBIK, W. D. Ecology and Natural History of tropical bees. **Cambridge University Press**, p. 514, 1989.

RS DUARTE, J. S.; SOARES, A. View of Nest Architecture of *Tetragona clavipes* (Fabricius) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).pdf. **Sociobiology**, v. 63, n. 2, p. 813–818, 2016.

RUY, R.; REIS, T. E. DA S. Risco de contaminação por agrotóxicos das águas subterrâneas em áreas cultivadas com cana-de-açúcar. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 22, p. 77–84, 2012.

SAEED, R.; RAZAQ, M.; HARDY, I. C. Impact of neonicotinoid seed treatment of cotton on the cotton leafhopper, *Amrasca devastans* (Hemiptera: Cicadellidae), and its natural enemies. **Pest Management Science**, v. 72, n. 6, p. 1260–1267, 2016.

SAKA, M.; TADA, N. Acute and chronic toxicity tests of systemic insecticides, four neonicotinoids and fipronil, using the tadpoles of the western clawed frog *Silurana tropicalis*. **Chemosphere**, v. 271, p. 129–418, 2021.

SANCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Pesticide Residues and Bees — A risk assessment. **Plos One**, v. 9, n. 4, p. 1–16, 2014.

SANTOS, A. et al. Criação e Manejo do Meliponário na ETEC Benedito Storani. **ETEC**, 2021.

SARAIVA, A. DE S. et al. Assessment of Thiamethoxam Toxicity to *Chironomus riparius* and *Dugesia tigrina*. ICOETox; IBAMTox. **Anais...2016**

SARAIVA, A. S. et al. Assessment of thiamethoxam toxicity to *Chironomus riparius*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 137, p. 240–246, 1 mar. 2017.

SARAIVA, A. S. et al. Lethal and sub-lethal effects of cyproconazole on freshwater organisms: a case study with *Chironomus riparius* and *Dugesia tigrina*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 12169–12176, 1 abr. 2018.

SARAIVA, A. S. et al. Spatial-temporal distribution of phytophagous and predatory mites in the canopy of *Jatropha curcas* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, n. 0, p. 1–8, 2018a.

SARAIVA, A. S. et al. Strategies of cellular energy allocation to cope with paraquat-induced oxidative stress: Chironomids vs Planarians and the importance of using different species. **Science of the Total Environment**, v. 741, 1 nov. 2020.

SCHEPKER, T. J. et al. Neonicotinoid insecticide concentrations in agricultural wetlands and associations with aquatic invertebrate communities. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 287, n. March 2019, p. 106678, 2020.

SEAPA. **Boletim Agro em Dados.** Disponível em: <https://www.agricultura.go.gov.br/files/Agro-em-Dados%022020/AGRO_EM_DADOS_MARCO_2020_site.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2022.

SEAPA. **Valor Bruto da Produção Agropecuária de 2020 bate recorde e soma mais de R\$ 72,5 bilhões em Goiás.** Disponível em: <<https://www.agricultura.go.gov.br/comunica>>. Acesso em: 10 nov. 2022.

SGOLASTRA, F. et al. Bees and pesticide regulation: Lessons from the neonicotinoid experience. **Biological Conservation**, v. 241, n. November 2019, p. 108356, 2020.

SHEN, C. et al. Predicting and assessing the toxicity and ecological risk of seven widely used neonicotinoid insecticides and their aerobic transformation products to aquatic organisms. **Science of the Total Environment**, v. 847, n. July, p. 157670, 2022.

SHUMAN-GOODIER, M. E.; PROPPER, C. R. A meta-analysis synthesizing the effects of pesticides on swim speed and activity of aquatic vertebrates. **Science of the Total Environment**, v. 565, p. 758–766, 2016.

SILVA, C. L. E. et al. Toxicity in Neonicotinoids to *Folsima candida* and *Eisenia andrei*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 39, n. 3, p. 548–555, 2020.

SILVA, F. J. A. et al. Comportamento de nidificação de *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. 1 - 15, 2021a.

SILVA, L. C. R. et al. Do bio-insecticides affect only insect species? Behavior, regeneration, and sexual reproduction of a non-target freshwater planarian. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021b.

SILVA, L. D. et al. Monitoring the susceptibility to insecticides in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 116–125, 2009.

SILVA, R. B. V.; SANTOS, F. O.; TEIXEIRA, I. R. DO V. Environmental Education: the importance of Meliponaries in the Academic Environment. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 15781–15792, 2021.

SILVA, W. P.; LIMA, J. R.; PAZ, D. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on-line**, v. 10, n. 3, p. 146–152, 2012.

SIMÃO, F. C. P. et al. Effects of pyrene and benzo[a]pyrene on the reproduction and newborn morphology and behavior of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Chemosphere**, v. 264, 2021.

SIMÃO, F. C. P. et al. Toxicity of different polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Environmental Pollution**, v. 266, 2020.

SIVITER, H.; MATTHEWS, A. J.; BROWN, M. J. F. Environmental Impacts of Proposed Management Options A Combined LD 50 for Agrochemicals and Pathogens

in Bumblebees (*Bombus terrestris* [Hymenoptera: Apidae]). **Environmental Entomology**, n. Xx, p. 1–7, 2022.

SLAA, E. J. et al. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **To cite this version: HAL Id: hal-00892203 Review article Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives OF POLLINATION IN COMMERCIALY GROWN**. 2006.

SLABY, S. et al. Distribution and fate of pesticides and transformation products in small lentic waterbody: Fish, water and sediment contaminations in an agricultural watershed. **Environmental Pollution**, v. 292, 2022.

SOUZA, R. M. et al. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 135, p. 22–37, 2020.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. **Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/qualidade/dinamica/agrotoxicos-no-brasil>>. Acesso em: 09 nov. 2022.

STINSON, S. A. et al. Agricultural surface water, imidacloprid, and chlorantraniliprole result in altered gene expression and receptor activation in *Pimephales promelas*. **Science of the Total Environment**, v. 806, p. 150920, 2022a.

SUMITOMO CHEMICAL, S. Imidacloprid Nufarm 700 WG. 2020.

SYNGENTA. **Inseticidas**. Disponível em: <<https://www.syngenta.com.br/inseticidas>>. Acesso em: 9 out. 2022a.

SYNGENTA. **Resíduos de agrotóxicos nos alimentos: estamos sendo envenenados?** Disponível em: <<https://www.syngenta.com.br/residuos-de-agrotoxicos-nos-alimentos-estamos-sendo-envenenados>>. Acesso em: 9 out. 2022b.

TACKENBERG, M. C. et al. Neonicotinoids disrupt circadian rhythms and sleep in honey bees. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020.

TAILLEBOIS, E. et al. Neonicotinoid insecticides mode of action on insect nicotinic acetylcholine receptors using binding studies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 151, p. 59–66, 2018.

TAIRA, K. et al. Urinary concentrations of neonicotinoid insecticides were related to renal tubular dysfunction and neuropsychological complaints in Dry-zone of Sri Lanka. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

TASMAN, K. et al. Neonicotinoids disrupt memory, circadian behaviour and sleep. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2021.

TASMAN, K.; RANDS, S. A.; HODGE, J. J. L. The Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid Disrupts Bumblebee Foraging Rhythms and Sleep. **iScience**, v. 23, n. 12, p. 101827, 2020.

TAN, K. et al. Imidacloprid alters foraging and decreases bee avoidance of predators. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 3–10, 2014.

TEIXEIRA, A. F. Agroecological principles applied to stingless bees beekeeping. **Incaper**, v. 1, n. 1990, p. 4, 2013.

THOMPSON, D. A. et al. A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: Current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 22, n. 6, p. 1315–1346, 2020.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247–268, 2005.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: Objectives, Principles and Perspectives. **The Evaluation of Toxicological Data for the Protection of Public Health**, p. 373–413, 1977.

UDAYAKUMAR, A.; SHYLESHA, A. N.; SHIVALINGASWAMY, T. M. Coconut shell traps: easiest and economic way to attract stingless bees (*Tetragonula iridipennis*) Smith. **Sociobiology**, v. 68, n. 4, 2021.

UE. **Resolução do Parlamento Europeu, de 10 de junho de 2021, sobre o Regulamento de Execução (UE) 2021/621 da Comissão, de 15 de abril de 2021, que altera o Regulamento (UE) n.º 37/2010 para classificar a substância imidaclopride quanto ao seu limite máximo d.** Disponível em: <https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/TA-9-2021-0284_EN.html>. Acesso em: 10 nov. 2022.

US-EPA. **Distúrbio de Colapso de Colônias.** Disponível em: <<https://www.epa.gov/pollinator-protection/colony-collapse-disorder>>. Acesso em: 10 nov. 2022b.

US-EPA. **Imidacloprid: Proposed Interim Registration Review Decision.** Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-%252001/documents/imidacloprid_pid_signed_1.%252022.2020.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2022.

US-EPA. **Schedule for Review of Neonicotinoid Pesticides.** Disponível em: <<https://www.epa.gov/pollinator-protection/schedule-review-neonicotinoid-pesticides>>. Acesso em: 22 out. 2022a.

UPL. **Imidagold 700 wg.** Disponível em: <https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/imidagold700wg150218.pdf>. Acesso em: 20 out. 2022.

UN. **United Nations expert group meeting on population and sustainable development, in particular, sustained and inclusive economic growth.** Disponível em: <World Population Prospects - Population Division - United Nations>. Acesso em:

10 nov. 2022.

VALE, P. et al. Predador de abelhas sem ferrão no Cerrado brasileiro: primeiro registro de *Hololepta Leionota reichii* Marseul (Coleoptera, Histeridae) em colônia de *Melipona quadrifasciata*. **Tecnia**, v. 4, n. 1, p. 7, 2019.

VAN ENGELSDORP, D. et al. A survey of honey bee colony losses in the U.S., Fall 2007 to Spring 2008. **PLOS ONE**, v. 3, n. 12, p. 8–13, 2008.

VAN GESTEL, C. A. M. et al. Multigeneration toxicity of imidacloprid and thiacloprid to *Folsomia candida*. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 3, p. 320–328, 2017.

VASSEUR, P.; MASFARAUD, J. F.; BLAISE, C. Ecotoxicology, revisiting its pioneers. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 4, p. 3852–3857, 2021.

VILA-FARRÉ, M.; RINK, J. C. The ecology of freshwater planarians. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2018. v. 1774p. 173–205.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual de aproveitamento integral dos produtos das abelhas nativas sem ferrão**. 2018.

VILLAS-BÔAS, J. Manual Tecnológico 3: Mel de Abelhas sem Ferrão. **ISPN**, p. 1–98, 2012.

VOSSLER, F. G. et al. Stingless Bees as Potential Pollinators in Agroecosystems in Argentina: Inferences from Pot-Pollen Studies in Natural Environments. **Springer, Cham**, p. 155–175, 2018.

VUONG, A.; ZHANG, C.; CHEN, A. Associations of neonicotinoids with insulin and glucose homeostasis parameters in US adults: NHANES 2015–2016. **Chemosphere**, v. 286, n. 1, 2022.

WANG, X. et al. Mechanism of Neonicotinoid Toxicity: Impact on Oxidative Stress and Metabolism. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 58, p. 471–507, 2018.

WHITEHORN, P. R. et al. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 351–352, 2012.

WILLIS CHAN, D. S.; RAINE, N. E. Population decline in a ground-nesting solitary squash bee (*Eucera pruinosa*) following exposure to a neonicotinoid insecticide treated crop (*Cucurbita pepo*). **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.

WOOD, T. J.; GOULSON, D. The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 21, p. 17285–17325, 2017.

WORLD BANK. **Pesticides: Agricultural Pollution**. Disponível em: <<https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/29507>>. Acesso em: 10 nov.

2022.

WU, J. P.; LI, M. H. The use of freshwater planarians in environmental toxicology studies: Advantages and potential. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Academic Press, 15 out. 2018.

YUAN, T.-H. et al. Characteristics of neonicotinoid and metabolite residues in Taiwanese tea leaves. **Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 1, p. 341–349, 2022.

ZHANG, H. et al. Exposure to neonicotinoid insecticides and their characteristic metabolites: Association with human liver cancer. **Environmental Research**, v. 208, n. January, p. 112703, 2022.

ZHANG, Q. et al. Toxicological Effect and Molecular Mechanism of the Chiral Neonicotinoid Dinotefuran in Honeybees. **Environmental Science & Technology**, 2021.

APÊNDICE A – LEVANTAMENTO REGIONAL

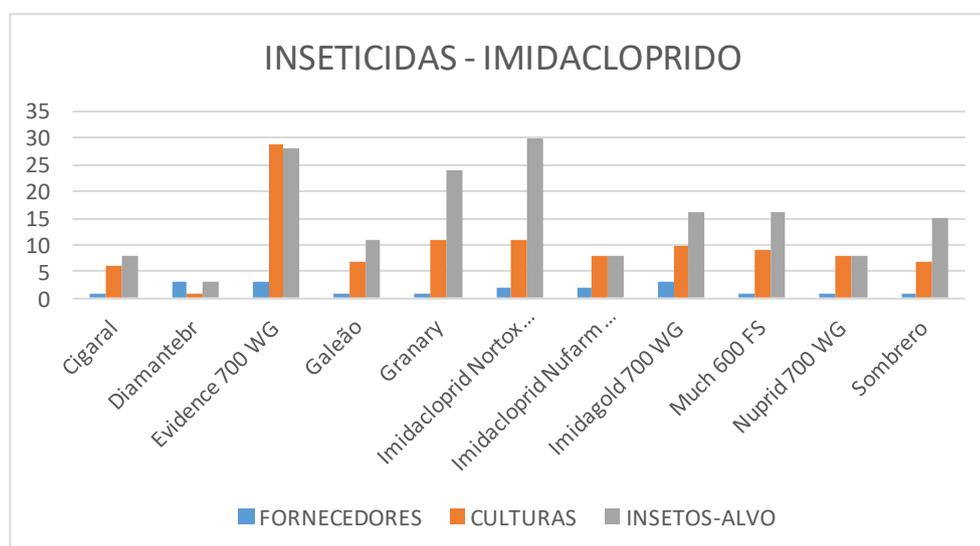
IMIDACLOPRIDO			
Cidade	Nomes comerciais	Qtd.	Valor
Caçu	Cigaryl	1 kg	R\$ 112,00
Caçu	Diamantebr	1 L	R\$ 104,00
Caçu	Imidacloprid Nortox 480	1 L	R\$ 104,00
Caçu	Imidacloprid Nufarm 700 WG	1 kg	R\$ 112,00
Caçu	Imidagold 700 WG	1 kg	R\$ 112,00
Caçu	Nuprid 700 WG	1 kg	R\$ 112,00
Caçu	Evidence 700 WG	1 kg	R\$ 201,66
Jataí	Diamantebr	1 L	R\$ 87,00
Jataí	Galeão	1 L	R\$ 108,00
Jataí	Imidagold 700 WG	1 kg	R\$ 102,00
Jataí	Sombbrero	1 L	R\$ 112,00
Rio Verde	Imidacloprid Nufarm 700 WG	1 kg	R\$ 115,00
Rio Verde	Diamantebr	20 L	R\$ 2.838,90
Rio Verde	Imidacloprid Nortox 480	5 L	R\$ 780,00
Rio Verde	Imidagold 700 WG	1 kg	R\$ 150,00
Rio Verde	Granary	1 kg	R\$ 120,20
Rio Verde	Much 600 FS	1 L	R\$ 134,50

TIAMETOXAM			
Cidade	Nomes comerciais	Qtd.	Valor
Caçu	Actara 250 WG	1 kg	R\$ 239,00
Caçu	Cruiser 350 FS	1 L	R\$ 353,00
Rio Verde	Cruiser 350 FS	5 L	R\$ 340,00

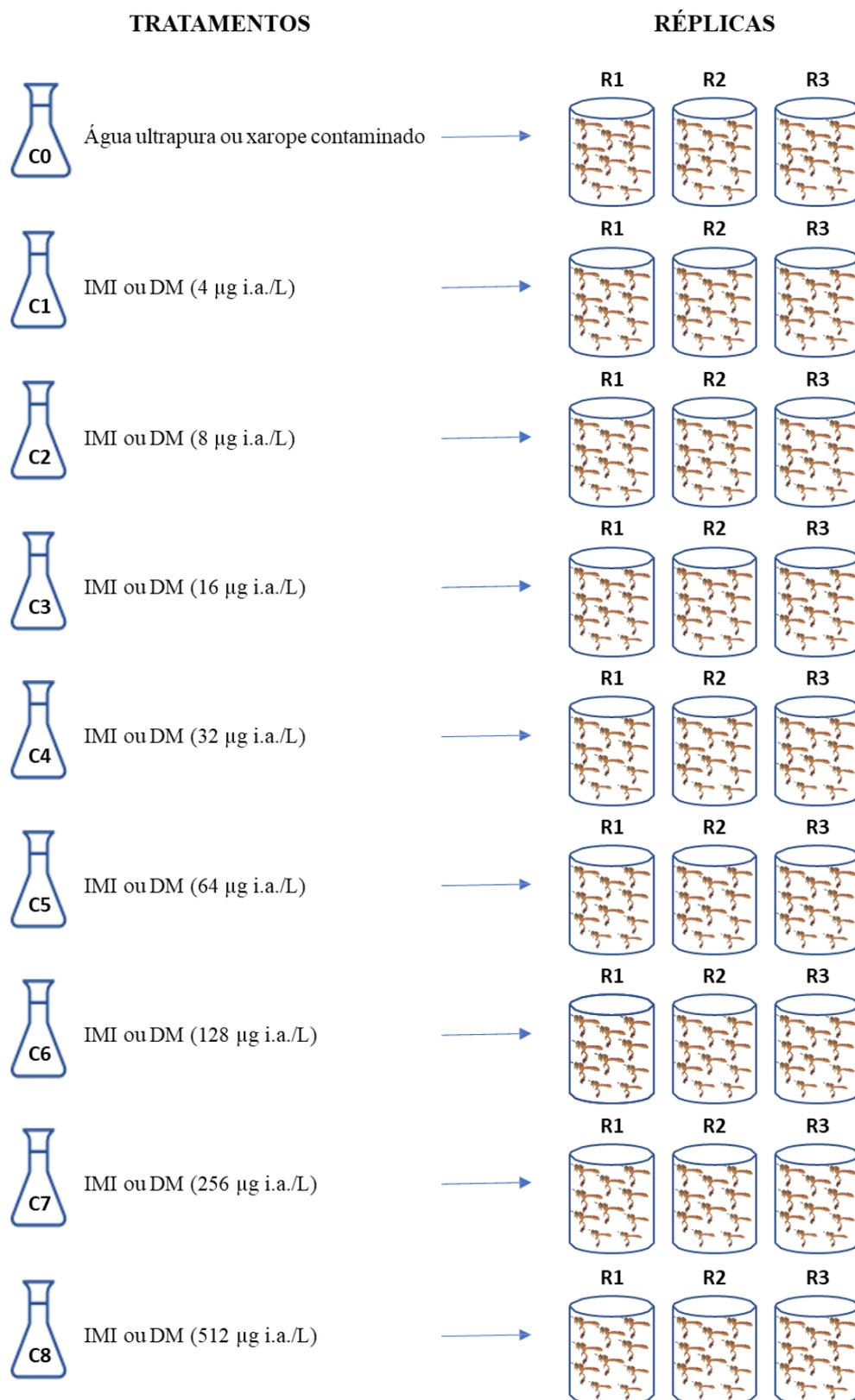
CLOTIANIDINA			
Cidade	Nomes comerciais	Qtd.	Valor
Caçu	Inside FS	1 L	R\$ 739,00

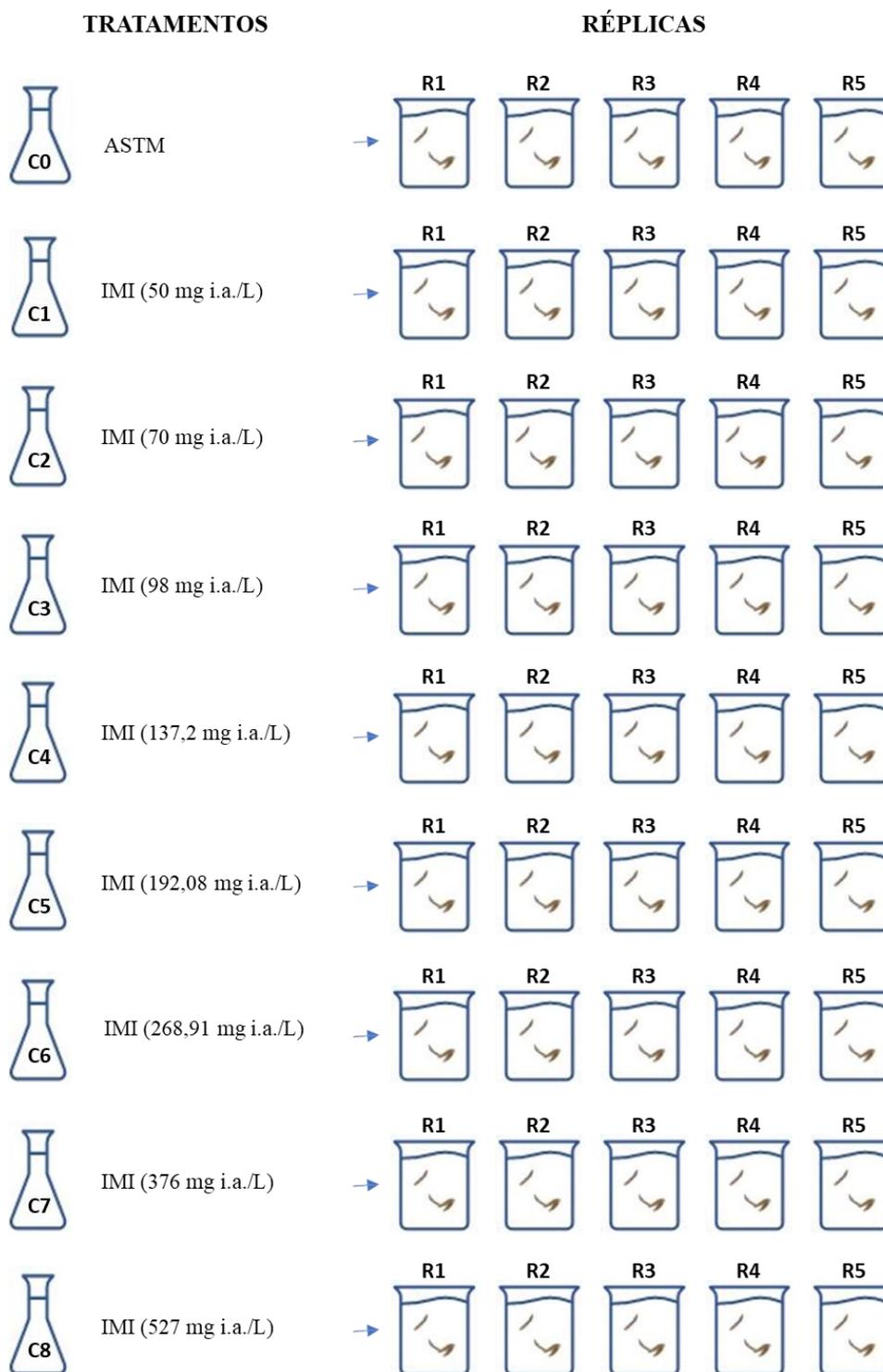
APÊNDICE B – FORNECEDORES, CULTURAS E INSETOS-ALVO

NOMES COMERCIAIS	FORNECEDORES	CULTURAS	INSETOS-ALVO
Cigalal	1	6	8
Diamantebr	3	1	3
Evidence 700 WG	3	29	28
Galeão	1	7	11
Granary	1	11	24
Imidacloprid Nortox 480	2	11	30
Imidacloprid Nufarm 700 WG	2	8	8
Imidagold 700 WG	3	10	16
Much 600 FS	1	9	16
Nuprid 700 WG	1	8	8
Sombrero	1	7	15

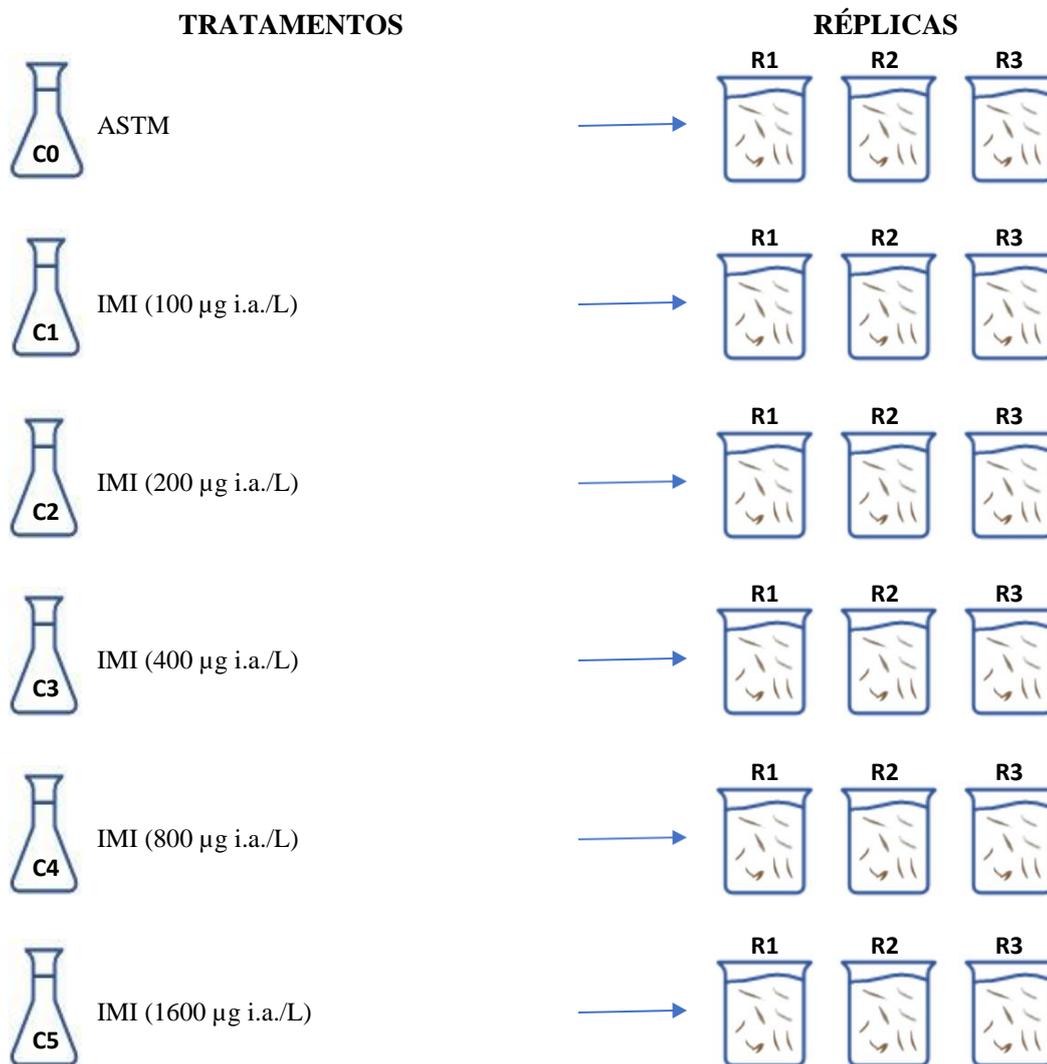


APÊNDICE C – DESENHOS EXPERIMENTAIS (AGUDO - ABELHAS)

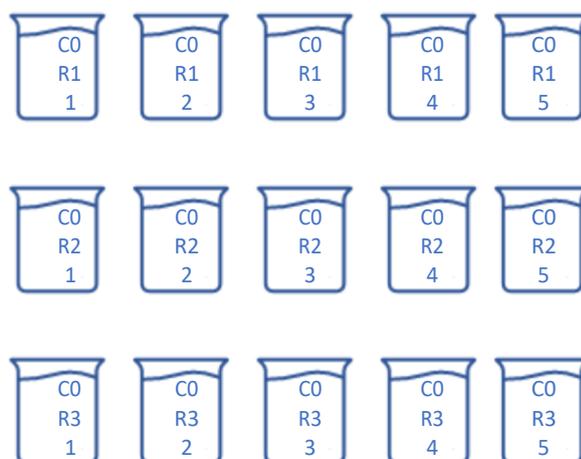


APÊNDICE D – DESENHOS EXPERIMENTAIS (AGUDO - PLANÁRIAS)

APÊNDICE E – DESENHOS EXPERIMENTAIS (CRÔNICO - PLANÁRIAS)



RÉPLICAS E SUB-RÉPLICAS



APÊNDICE F – GRAPHICAL ABSTRACT (BIOMONITORAMENTO)

APÊNDICE G – APARATO EXPERIMENTAL (NÉVOA)

Aparato Experimental – Abelhas (névoa)



Soluções de teste

Névoa de 350 microlitros/min

APÊNDICE H – COMPILADO DE IMAGENS (ORGANISMOS TESTE - ABELHAS)



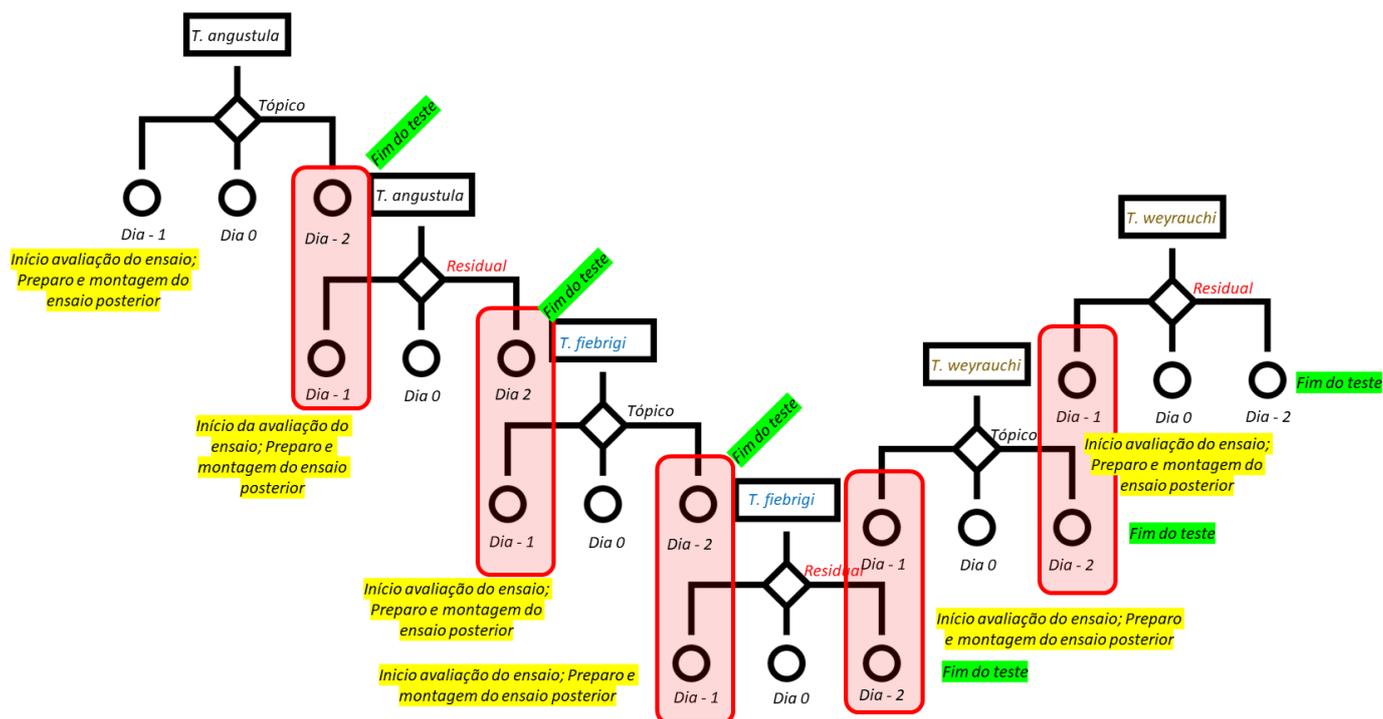
ANEXO A – ORGANISMO TESTE (CAPTURA DE ABELHAS)

Dário, B. M.; Oliveira, A. A. (2021, novembro 27). Captura de abelha nativa – IF Goiano Campus Rio Verde. WhatsApp. Imagem eletrônica.

ANEXO B – ORGANISMO TESTE (PLANÁRIA)

Farache, F.; Oliveira, A. A. (2022, janeiro 27). Cultura de planárias do Grupo CAE – IF Goiano Campus Rio Verde. WhatsApp. Imagem eletrônica.

ANEXO C – CRONOGRAMA EXPERIMENTAL (ABELHAS)



Fonte: Althiéris Saraiva. Cronograma Experimental. 24 de maio de 2021. E-mail (althieris.saraiva@ifgoiano.edu.br).

ANEXO D – CARTA DE REVISÃO E CORREÇÃO LINGUÍSTICA

José Tarcísio Barbosa

Revisor, escritor, professor

Engenheiro Agrônomo, MSc.

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que a dissertação apresentada por Aline Arantes de Oliveira ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano - *Campus* Rio Verde, intitulada TOXICIDADE DE INSETICIDA À BASE DE IMIDACLOPRIDO EM ABELHAS NATIVAS E PLANÁRIAS DE ÁGUA DOCE, sob orientação do Prof. Dr. Althiéris de Souza Saraiva, foi revisada por mim e está de acordo com as normas cultas da língua portuguesa.

Viçosa, 09 de fevereiro de 2023


Prof. José Tarcísio Barbosa
Rua Fuad Chequer, 160/202
Bairro Clélia Bernardes
36.570.000 - Viçosa - MG