

**TOXICIDADE DO INSETICIDA FIPRONIL EM ABELHAS SEM FERRÃO DA
ESPÉCIE *Scaptotrigona postica* (Apidae: Trigonini)**

TOXICITY OF THE INSECTICIDE FIPRONIL IN STINGLESS BEES OF THE SPECIES
Scaptotrigona postica (Apidae: Trigonini)

Mariellen Caroline Sousa e Silva¹

Cássio Resende de Moraes^{2*}

RESUMO: *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae, Trigonini) são abelhas sociais, conhecidas popularmente como “Mandaguari” e destaca-se por ser polinizadora de diversas plantas nativas e cultivadas. Entretanto, devido a expansão da agricultura brasileira e do uso de medidas de controle de artrópodes-praga, verifica-se o aumento no uso de inseticidas. O inseticida Fipronil atua no sistema nervoso central como um antagonista não competitivo aos receptores GABA, em canais de cloro. Em função da sua ação tóxica, FP têm sido associado com o declínio de insetos polinizadores. Partindo da premissa que existem atualmente poucos dados sobre os efeitos ecotoxicológicos de FP em abelhas sem ferrão, o presente trabalho teve por objetivo, avaliar a toxicidade de FP em *S. postica*. Em vista do benefício econômico e ambiental prestados pelas abelhas, avaliar os efeitos de diferentes pesticidas é fundamental no intuito de estimar os riscos reais destas moléculas, bem como permitir a adoção de medidas ambientalmente pautadas na proteção de organismos polinizadores. Abelhas da espécie *S. postica* foram coletadas na entrada dos ninhos e posteriormente foram transportadas para o laboratório, onde foram anestesiadas e submetidas ao tratamento tópico com diferentes concentrações de FP. Decorrido 24 e 48h após exposição, as abelhas foram quantificadas e a toxicidade foi avaliada por meio da determinação das DL₅₀ geradas. Nas condições experimentais testadas em *S. postica*, FP demonstrou ser altamente tóxico. As DL₅₀ calculadas em 24 e 48h após exposição foram de 0,56 e 0,47 ng i.a/abelha. Mais estudos devem ser conduzidos com abelhas nativas do Brasil, buscando identificar as concentrações de uso de pesticidas que não coloquem em risco a vida dos organismos polinizadores.

Palavras-chave: Abelhas nativas do Brasil; Inseticida; DL₅₀

1. Licenciada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), Minas Gerais, Brasil.

2. Doutor em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. Docente e Pesquisador pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP)

* Autor de correspondência: cassio.1015@hotmail.com

ABSTRACT: *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera, Apidae, Trigonini) are social bees, popularly known as “Mandaguari” and stand out for being pollinators of several native and cultivated plants. However, due to the expansion of Brazilian agriculture and the use of measures to control arthropod pests, there has been an increase in the use of insecticides. The insecticide Fipronil acts on the central nervous system as a non-competitive antagonist to GABA receptors in chloride channels. Due to its toxic action, FP has been associated with the decline of pollinating insects. Based on the premise that there is currently little data on the ecotoxicological effects of FP on stingless bees, the present study aimed to evaluate the toxicity of FP on *S. postica*. Given the economic and environmental benefits provided by bees, evaluating the effects of different pesticides is essential in order to estimate the real risks of these molecules, as well as to allow the adoption of environmentally-oriented measures to protect pollinating organisms. Bees of the species *S. postica* were collected at the entrance of the nests and were subsequently transported to the laboratory, where they were anesthetized and subjected to topical treatment with different concentrations of FP. After 24 and 48 hours after exposure, the bees were quantified and the toxicity was evaluated by determining the LD₅₀ generated. Under the experimental conditions tested in *S. postica*, FP proved to be highly toxic. The LD₅₀ calculated at 24 and 48 hours after exposure were 0.56 and 0.47 ng a.i./bee. Further studies should be conducted with native bees from Brazil, seeking to identify the concentrations of pesticide use that do not endanger the lives of pollinating organisms.

Keywords: Native Brazilian bees; Insecticide; LD₅₀

1. INTRODUÇÃO

Abelhas realizam a maior parte da polinização cruzada entre as angiospermas (CASTRO *et al.*, 2006) e a ação mutualística é garantida, devido a necessidade de obtenção de recursos florais pelas abelhas, uma vez que estes recursos correspondem a maior fonte de obtenção de proteínas (pólen) e carboidratos (néctar), garantindo a sobrevivência da colônia e ao mesmo tempo o sucesso evolutivo das angiospermas (BRITAIN *et al.*, 2011).

No Brasil, as abelhas sem ferrão são responsáveis pela polinização de 30 a 90% da flora nativa do país (KERR *et al.*, 1996; IMPERATRIZ-FONSECA e NUNES-SILVA, 2010), podem ainda realizar a polinização em diversos cultivares agrícolas (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2006; ROSELINO *et al.*, 2010; MOMMAERTS *et al.*, 2011; MOUTON, 2011; ROCHA, 2012; BARTOMEUS *et al.*, 2014).

Embora as abelhas tenham um grande apelo econômico e ambiental, nos últimos anos vários relatos por parte de apicultores têm apontado para a redução desenfreada destes organismos no ambiente. Entre 2006/2008 uma grande perda de abelhas *Apis mellifera* foi registrada nos Estados Unidos, caracterizada pelo desaparecimento de abelhas operárias adultas, em um fenômeno que ficou mundialmente conhecido como Desordem do Colapso da Colônia (DCC) (VANENGELSDORP *et al.*, 2009). Várias hipóteses foram levantadas por pesquisadores para explicar o fenômeno, que inclui fragmentação vegetal, patógenos, precária condição nutricional da colônia e subsequente desenvolvimento de doenças, aquecimento global e contaminantes ambientais. Neste último caso, destaque-se os pesticidas como, por exemplo, os inseticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, etc (CORNMAN *et al.*, 2012).

Apesar desse fenômeno estar relacionado com a espécie *A. mellifera*, as abelhas sem ferrão também são susceptíveis a efeitos deletérios por ação antrópica, principalmente por meio da intoxicação com produtos fitossanitários (JOHNSON, 2010).

Muitos trabalhos têm demonstrado a relação de pesticidas a diversos efeitos negativos em abelhas nativas do Brasil (LOURENÇO *et al.*, 2012ab; TOMÉ *et al.*, 2012; JACOB *et al.*, 2013; JACOB *et al.*, 2014). No entanto, poucos dados estão disponíveis sobre os efeitos ecotoxicológicos de inseticidas em *S. postica* (JACOB *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2013; JACOB *et al.*, 2015; SOARES *et al.*, 2015).

O fenilpirazol 5-amino-1-[2,6-dichloro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-[(trifluoromethyl)sulfinyl]-1*H*-pyrazole-3-carbonitrile), conhecido como Fipronil (FP) é um inseticida comumente utilizado no combate de pragas em sistemas agrícola e também na saúde animal (ANVISA, 2005). FP surgiu na década de 1990, descoberto por May e Baker e desenvolvido por Rhône – Poulenc, sendo introduzido no mercado agrícola nos Estados Unidos em 1996 (BOBÉ *et al.*, 1998).

FP apresenta ação não-competitiva e antagonista aos receptores do GABA (COLE *et al.*, 1993; DAS *et al.*, 2006) em canais de cloro, bloqueando o influxo de íons de Cl⁻ em sinapses inibitórias de neurônios (CONNELLY, 2001; AAJLOUD *et al.*, 2003; STENERSEN, 2004).

Como consequência do bloqueio das vias de entrada de cloro, o impulso nervoso é comprometido, resultando em uma atividade neural excessiva (COLE *et*

al., 1993). Quando expostos ao inseticida, os insetos contaminados passam a apresentar problemas de hiperexcitação dos músculos e nervos, paralisia severa e morte (BOBÉ *et al.*, 1998; GUNASEKARA e TROUNG, 2007).

Mesmo sendo considerado um inseticida eficaz, FP é altamente tóxico para abelhas (LOURENÇO *et al.*, 2012), sendo apontado, em conjunto com inseticidas da classe dos neonicotinóides, os principais contribuintes químicos para o desaparecimento desses insetos.

Partindo da premissa que existem atualmente poucos dados sobre os efeitos ecotoxicológicos de FP em abelhas sem ferrão, o presente trabalho teve por objetivo, avaliar a toxicidade de FP em *S. postica*.

Em vista do benefício econômico e ambiental prestados pelas abelhas, avaliar os efeitos de diferentes pesticidas é fundamental no intuito de estimar os riscos reais destas moléculas, bem como permitir a adoção de medidas ambientalmente pautadas na proteção de organismos polinizadores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Biológico

Foi utilizado como material biológico, abelhas operárias forrageiras da espécie *S. postica*. Todas as abelhas foram coletadas de ninhos naturalmente instalados em regiões de mata destinada a reserva legal em propriedade de pequeno porte, situada na cidade de Monte Carmelo, MG, Brasil. Na propriedade rural de coleta de abelhas não existe atividade agrícola, sendo a única atividade da propriedade a criação de gado leiteiro.

Após a coleta de abelhas, as mesmas foram conduzidas para o Laboratório de citologia e microbiologia do Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), onde foi realizada a experimentação e análise dos resultados. As colônias foram inspecionadas quanto à presença ou ausência de sinais que confirme uma qualidade saudável do ninho.

2.2 Compostos químicos

O inseticida FP (99%) (**Figura 1**) foi fornecido pela empresa Dalian Raiser Pesticides (China). Para o preparo das doses, o FP foi diluído em acetona P.A (Merck) (99%) na proporção 1:1 obtendo-se uma solução estoque de 1000 ng i.a/μL

acetona, mantida em frasco de vidro protegido da luz e preservado a -10°C . A partir da solução estoque foram preparadas as demais soluções de trabalho.

Acetona (CAS 67-64-1) foi obtido pela empresa SIGMA ALDRICH® e usada nestes experimentos como controle solvente conforme metodologias internacionais (OECD, 1998, ROAT *et al.*, 2012.; LOURENÇO *et al.*, 2012a., OLIVEIRA *et al.*, 2013; JACOB *et al.*, 2013; MEDRZYCKI *et al.*, 2013). Acetona é comumente usada como controle solvente, devido a sua alta capacidade de volatilização, sendo por tanto, usada nesse trabalho como controle negativo.

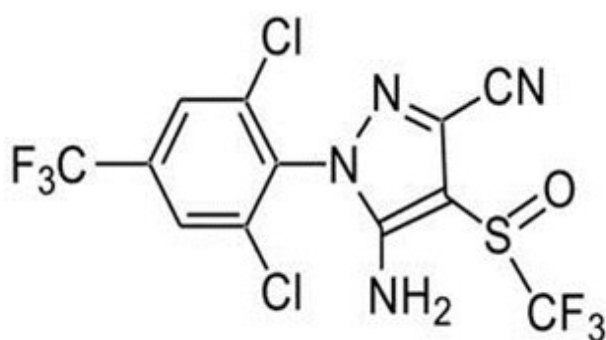


Figura 1. Estrutura química do inseticida Fipronil

2.3 Preparo dos bioensaios e cálculo da DL₅₀

As abelhas *S. postica* foram coletadas na entrada de três colmeias durante o período da manhã, priorizando a coleta de abelhas que estivessem retornando à colmeia com pólen nas corbículas.

Em laboratório as abelhas foram anestesiadas por 10 segundos com uso de gás carbônico (CO₂) (MORAES *et al.*, 2000; LOURENÇO *et al.*, 2012) e pesadas em balança analítica de precisão.

Para cada grupo experimental foram utilizadas 30 abelhas de cada espécie (10 forrageiras de cada colônia), as quais foram expostas topicamente a um volume de 1 μL (região dorsal do tórax das abelhas) nas diferentes concentrações de FP e aos grupos controles. Após aplicação, as abelhas serão acondicionadas em gaiolas plásticas (500 mL) na ausência de tampa por 5 minutos, respeitando o tempo para melhor volatilização do solvente. Posteriormente, as gaiolas foram tampadas e mantidas em estufa a $31\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $65\pm 5\%$ de umidade relativa. Foram fornecidos água

e alimento (solução de mel de *A. mellifera* + água) embebido em algodão durante todo o experimento.

Abelhas que apresentaram comportamentos anormais tais como tremores, letargia, bater de asas e paralisia, foram previamente descartadas na fase inicial do experimento.

A partir da solução mãe, 8 concentrações foram selecionadas para determinação da DL₅₀. O cálculo da DL₅₀ foi calculado nos tempos de 24 e 48h de exposição de acordo com a OECD (1998). Em ordem para validação dos testes, a taxa de mortalidade dos grupos controles não excedeu a 10%, seguindo o nível de confiança de 95%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi avaliado a toxicidade do inseticida FP em abelhas sem ferrão nativas do Brasil pertencentes a espécie *Scaptotrigona postica*. Conforme apresentado na **Figura 2A e B** a DL₅₀ obtida de FP em *S. postica* em 24 e 48h após exposição foi de 0,56 e 0,47 ng i.a/abelha, respectivamente.

Os resultados indicam que *S. postica* é altamente sensível ao inseticida FP. Conforme apresentado na **Tabela 1**, poucos dados estão disponíveis sobre a toxicidade do inseticida FP, principalmente em abelhas nativas do Brasil. Jacob et al. (2012) via tratamento tópico por 24h verificou DL_{50-24h} de 0,54 ng i.a/abelha, obtendo resultados muito próximos aos observados no presente trabalho. Resultados de toxicidade de FP em *Melipona scutellaris* foram gerados por Moraes et al (2018) (DL_{50-24h}: 0,40 ng i.a/abelha) (**Tabela 1**).

Resultados de toxicidade usando como marcador de letalidade a DL_{50-24h} foram estudados em *A. mellifera*. De acordo com a **Tabela 1** os resultados de DL_{50-24h} calculados para *A. mellifera* oscilaram de 1,06 a 9 ng i.a/abelha (ROAT et al., 2012; ZALUSKI et al., 2015; BOVI; ZALUSKI; ORSI, 2018) e em *Apis cerana japonica* foi de 16 ng i.a/abelha (YASUDA et al., 2017). Resultados de DL_{50-48h} foram observados em *A. mellifera* oscilando de 3,38 a 5,83 ng i.a/abelha (LI et al., 2010; CARVALHO et al., 2013) e em *A. cerana japonica* de 2,5 ng i.a/abelha (YASUDA et al., 2017).

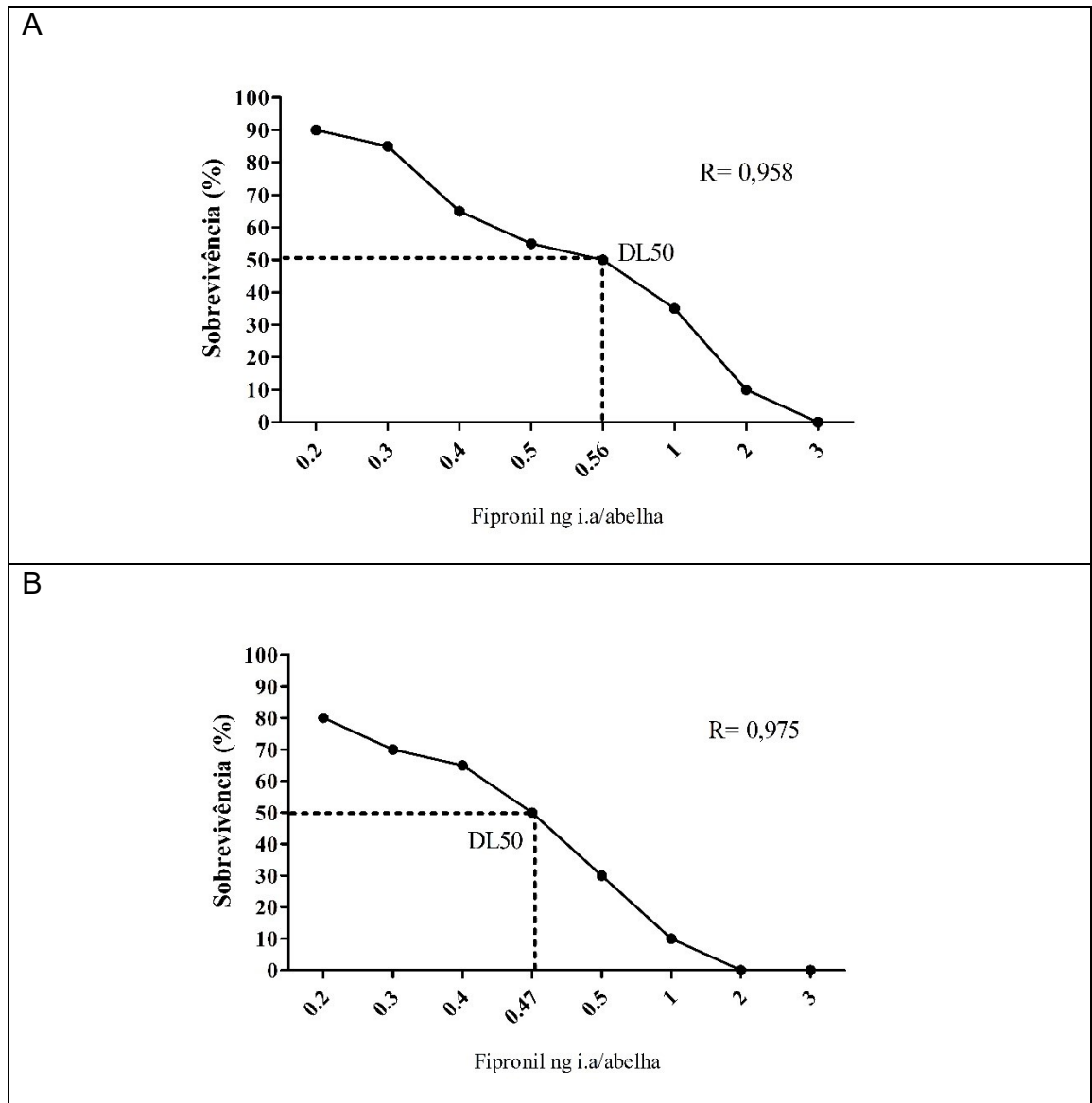


Figura 2. Toxicidade do inseticida FP em *S. postica* após 24h (A) e 48h (B) de exposição.

No Brasil, para a liberação e comércio de pesticidas no campo, estes passam por regulamentação perante os órgãos competentes, a saber, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos renováveis (IBAMA) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os quais são responsáveis por fornecer o dossiê toxicológico, ecotoxicológico e técnico do produto (GODOY e OLIVEIRA, 2004).

Tabela 1. Dose letal (DL₅₀) do inseticida Fipronil em diferentes espécies de abelhas

Espécie	Tempo de exposição	DL50	Referência
<i>Apis mellifera</i>	24h	0,0080 ± 0,0021 µg/abelha	BOVI; ZALUSKI; ORSI, 2018
<i>Apis melífera</i>	24h	0,009 ± 0,003 µg/abelha	ZALUSKI et al., 2015
<i>Apis melífera</i>	24h	1,06 ng/abelha	ROAT et al., 2012
<i>Apis melífera</i> *	48h	3,45 ± 0,53 ng/abelha	LI et al., 2010
<i>Apis melífera</i> **	48h	3,38 ± 0,80 ng/abelha	LI et al., 2010
<i>Apis melífera</i> ***	48h	3,86 ± 0,58 ng/abelha	LI et al., 2010
<i>Apis melífera</i>	48h	5,83 ng/abelha	CARVALHO et al., 2013
<i>Apis cerana japonica</i>	48h	0,0025 µg/abelha	YASUDA et al., 2017
<i>Apis cerana japonica</i>	24h	0,016 µg/abelha	YASUDA et al., 2017
<i>Melipona scutellaris</i>	24h	0,40 ng i.a/abelha	MORAIS et al., 2018
<i>Scaptotrigona postica</i>	24h	0,54 ng i.a/abelha	JACOB et al., 2012

* R(-)-enantiomer; ** S(p)-enantiomer; *** racemate

Os ensaios ecotoxicológicos em abelhas são realizados tomando como referência a OECD (OECD, 1987; 1998; 2017), sendo por tanto, os dados da DL₅₀ (dose letal capaz de causar efeito deletério e 50% da população testada) e CL₅₀ (concentração capaz de causar efeito deletério em 50% da população testada) obtidos em *A. mellifera*, extrapolados para as abelhas nativas (EVANGELISTA-RODRIGUES e MONDEGO, 2014).

No entanto, diversos trabalhos, tem demonstrado que abelhas nativas do Brasil são mais sensíveis a pesticidas, quando comparado com *A. mellifera* (ARENA e SGOLASTRA, 2014), tornando os resultados gerados, insuficientes para estimar o real risco de diferentes classes de pesticidas em abelhas sem ferrão (MORAIS *et al.*, 2018).

No presente trabalho ao verificar as médias de DL₅₀ obtidas em *A. mellifera* nos tempos de 24 e 48h após exposição é possível verificar uma maior sensibilidade das abelhas nativas brasileiras, sobretudo de *S. postica* ao inseticida Fipronil (**Figura 3**).

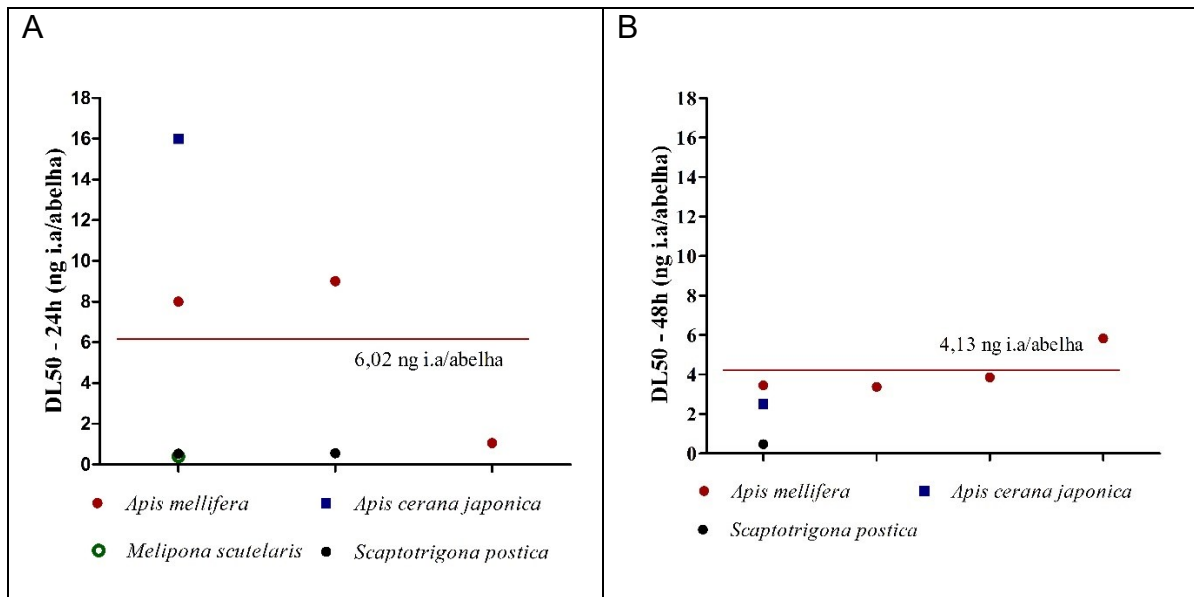


Figura 3. Comparação da DL₅₀ obtida em *S. postica* com outras abelhas expostas ao inseticida FP após 24h (A) e 48h (B) de tratamento.

* Linha vermelha indica a DL₅₀ média em *Apis mellifera*.

Estes resultados evidenciam que extrapolar os resultados de DL₅₀ obtidas em *A. mellifera*, via tratamento agudo ou crônico, para abelhas nativas do Brasil, pode negligenciar os reais efeitos dos pesticidas e favorecer o declínio destes polinizadores.

Abelhas estão constantemente expostas a diferentes classes de pesticidas encontrados nas matrizes florais. A exposição crônica de abelhas no campo a doses letais e subletais são preocupantes do ponto de vista ecotoxicológico, uma vez que a coleta de matrizes com pesticidas pode resultar na contaminação interna da colônia, e posteriormente, resultar em problemas na coesão do ninho, bem como efeito deletério (MORAIS et al., 2018).

Neste sentido, Chauzat *et al.* (2006) avaliaram a presença de resíduos de pesticidas em abelhas, em cinco apiários na França. Foram identificados resíduos de várias classes de pesticidas em 81 amostras de abelhas e dentre elas 10 continham resíduos de FP (1,2 µg/Kg) e 9 com resíduos de FP sulfona (0,3 µg/Kg), um metabolito mais tóxico do que a molécula original FP (HAINZL e CASIDA, 1996). Nesse mesmo país, durante três anos de monitoramento, FP foi identificado em amostras de abelhas e pólen, com média de 0,5 e 1,2 µg/Kg respectivamente.

Resíduos de FP sulfona e FP desulfinil foram também encontrados nessas matrizes (CHAUZAT *et al.*, 2011). Em um estudo semelhante realizado por Colin (2004) foram detectados 0,002 a 2 g de FP/Kg em 65% do pólen de girassol e do milho analisados.

Em um ano, cada colônia de *A. mellifera* pode coletar até 55 Kg de pólen e precisam produzir de 60 a 80 Kg de mel para suprir as necessidades energéticas do ninho (RORTAIS *et al.*, 2005). Durante o ciclo de vida e em determinadas estações do ano, as abelhas podem consumir de 59,4 a 792 mg de açúcar e de 5,4 a 65 mg de pólen (RORTAIS *et al.*, 2005). Em função desse consumo de produtos obtidos das matrizes florais, as abelhas estão cotidianamente expostas a diferentes doses e classes de pesticidas, por contato e ingestão.

Dependendo da monocultura ou do método de aplicação, os produtos formulados a base de FP, podem apresentar concentração de aplicação de 400 µg/mL (PEREIRA *et al.*, 2010). Estas concentrações correspondem a valores que excedem em 714,28 e 851,06 vezes a DL₅₀ obtida em *S. postica*, nesse estudo.

Efeitos de doses subletais de FP podem resultar em mudanças comportamentais e moleculares, podendo afetar o desenvolvimento de colônias, atividade motora (ZALUSKI *et al.*, 2015), aprendizagem e memória olfatória (BERNADOU *et al.*, 2009; EL HASSANI *et al.*, 2009), redução da atividade mitocondrial (NICODEMO *et al.*, 2014), citotoxicidade de células dos corpos de cogumelo (JACOB *et al.*, 2014) e redução da imunidade por meio de eventos sinérgicos entre o inseticida e patógenos de abelhas (AUFAUVRE *et al.*, 2012).

Por último, levando em consideração os dados de DL₅₀ calculados em *S. postica* e os observados por outros pesquisadores em *A. mellifera*, bem como a constante exposição de abelhas nativas brasileiras em matrizes contaminadas com pesticidas, incluindo FP, destacamos a necessidade de reformulação nos ensaios ecotoxicológicos com organismos polinizadores, sugerindo a inclusão de abelhas nativas brasileiras nas experimentações, visando a obtenção de dados ecotoxicológicos mais precisos e seguros.

4. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais testadas em *S. postica*, Fipronil demonstrou ser altamente tóxico. As DL₅₀ calculadas em 24 e 48h após exposição foram de 0,56 e

0,47 ng i.a/abelha. Mais estudos devem ser conduzidos com abelhas nativas do Brasil, buscando identificar as concentrações de uso de pesticidas que não coloquem em risco a vida dos organismos polinizadores.

REFERÊNCIAS

ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**. v. 23, p. 324-334, 2014.

BARTOMEUS, I.; POTTS, S.G.; STEFFAN-DEWENTER, I.; VAISSIERE, B.E.; WOYCIECHOWSKI, M.; KREWENKA, K.M.; TSCHEULIN, T.; ROBERTS, S.P.M.; SZENTGYORGYL, H.; WESTPHAL, C.; BOMMARCO, R. Contribution of insect pollinators to crop yield and quality varies with agricultural intensification. **PeerJ**. p. 1-20, 2014.

BRITAIN, C.; POTTS, S.G. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. **Basic Appl Ecol**. V. 12, p. 321–331, 2011.

CASTRO, M.S.; KOEDAM, D.; CONTRERA, F.A.L.; VENTURIERI, G.C.; PARRA, G.N.; MALAGODI-BRAGA, K.S.; CAMPOS, L.O.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P.; PERUQUETTI, R.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Stingless bee. In: Imperatriz-Fonseca VL, Saraiva AM, Jong DD (eds) Bees as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices. Holos, Ribeirão Preto, pp 75–83, 2006.

CORNMAN, R.S.; TARPY, D.R.; CHEN, Y.; JEFFREYS, L.; LOPEZ, D.; PETTIS, J.S.; VANENGELSDORP, D.; EVANS, J.D. Pathogen web in collapsing honey bee colonies. **Plos One**. V. 7, p. 1-15, 2012.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; MONDEGO, J.M. O desaparecimento de abelhas nos ecossistemas brasileiros. **Associação brasileira de zootecnistas**. p. 1-11, 2014.

FAROOQUI, T. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. **Neurochem. Int**. v. 62, p.122-136, 2013.

FERREIRA, R.A.; SILVA ZACARIN, E.C.; MALASPINA, O.; BUENO, O.C.; TOMOTAKE, M.E.; PEREIRA, A.M. Cellular responses in the Malpighian tubules of *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) exposed to low doses of fipronil and boric acid. *Micron*, v. 46, p. 57-65, 2013.

GODOY, R.C.B.; OLIVIERA, M.L. Agrotóxicos no Brasil: Processo de Registro, Riscos a saúde e programas de monitoramento. Embrapa, 30pp, 2004.

GOULSON, D. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **J. Appl. Ecol**. V. 50, p. 977-987, 2013.

KERR, W. E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V. A. Abelha Uruçu: Biologia Manejo e Conservação. Belo Horizonte – MG. **Acangau**. p. 1-143, 1996.

LOURENÇO, C. T.; CARVALHO, S. M.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. Oral toxicity of Fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**. v. 89, p. 921-924, 2012.

LOURENÇO, C.T.; CARVALHO, S.M.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R.C.F. Determination of fipronil LD₅₀ for the Brazilian bee *Melipona scutellaris*. **Hazards of pesticides to bees**. V. 1,p. 174-178, 2012b.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; NUNES-SILVA. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o código florestal brasileiro. **Biota Neotropical**. V. 10, p. 59-62, 2010.

IMPERATRIZ-FONSECA,V.L.; SARAIVA, A.M.; DE JONG, D. Bee as pollinators in Brazil: assessing the status and suggesting best practices, Ribeirão Preto. **Holos**. v. 112, p. 1-96, 2006.

JACOB, C.R.O.; SOARES, H.M.; CARVALHO, S.M.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Acute toxicity to the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**. v. 90, p. 69-72, 2013.

JACOB, C.R.O.; SOARES, H.M.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Society of Chemical Industry**, p.1-9, 2014.

JACOB, C.R.; SOARES, H. M.; CARVALHO, S.M.; NOCELLI, R.C.; MALASPINA, O. Acute toxicity of fipronil to the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 90, n. 1, p. 69-72, 2013.

JOHNSON. Honey bee colony collapse disorder. **CRS reporter for congress**. p. 1-17, 2010.

LI, Z.; LI, M.; HE, J.; ZHAO, X.; CHAIMANEE, V.; HUANG, W. F.; NIE, H.; ZHAO, Y.; SU, S. Differential physiological effects of neonicotinoid insecticides on honey bees: A comparison between *Apis mellifera* and *Apis cerana*. **Pestic Biochem Physiol**. V. 140, p. 1-8, 2017.

MEDRZYCK, P., GIFFARD, H., AUPINEL, P., BELZUNCES, L.P., CHAUZAT, M.P., CLABEN, C., COLIN, M.E., DUPONT, T., GIROLAMI, V., JOHNSON, V., LECONTE, Y., LUCKMANN, J., MARZARO, M., PISTORIUS, J., PORRINI, C., SCHUR, A., SGOLASTRA, F., SIMON DELSON, N., BOGO, G., BRUNET, J.L., DELBAC, F., DIOGON, M., EL ALAOU, H., PROVOST, B., TOSI, S., VIDAU, C., 2015. Standard methods for toxicology research in *Apis mellifera*. **J. Apicult. Res**. V. 52, n. 4, p. 1-60.

MOMMAERTS, V.; PUT, K.; SMAGGHE, G. *Bombus terrestris* as pollinator-and-vector to suppress *Botrytis cinerea* in greenhouse strawberry. **Pest Management Science**. V. 67, p. 1069-1075, 2011.

MOUTON, M. Significance of direct and indirect pollination ecosystem services to the apple industry in the western cape of south Africa. **PhD thesis**, University of Stellenbosch. p. 1-108, 2011.

MORAIS, C.R.; TRAVENÇOLO, B.A.N.; CARVALHO, S.M.; BELETTI, M.E.; SANTOS, V.S.V.; PEREIRA, B.B.; NAVES, M.P.; REZENDE, A.A.A.; SPANÓ, M.A.; VIEIRA, C.U.; BONETTI, A.M. Ecotoxicological effects of the insecticide Fipronil in Brazilian native stingless bees *Melipona scutellarin* (Apidae: Meliponini). **Chemosphere**. V. 206, p. 632-642, 2018.

MORAES, S.S., BAUTISTA, A.L., VIANA, B.F. Avaliação da toxicidade aguda (DL50 e CL50) de inseticidas para *Scaptotrigona tubiba* (Smith) (Hymenoptera: Apidae): via de contato. **An. Soc. Entomol. Brasil**. V. 29, n.1, p. 31-3, 2000.

MORENO, S.C.; SILVERIO, F.O.; LOPES, M.C.; RAMOS, R.S.; ALVARENGA, E.S.; PICANCO, M.C. Toxicity of new pyrethroid in pest insects *Asciamonuste* and *Diaphania hyalinata*, predator *Solenopsis saevissima* and stingless bee *Tetragonisca angustula*. **J Environ Sci Health B**. v. 52, n. 4, p. 237-243, 2017.

MORRISSEY, C.A.; MINEAU, P.; DEVRIES, J.H.; SANCHEZ-BAYO, F.; LIESS, M.; CAVALLARO, M.C.; LIBER, K. Neonicotinoid contamination of 711 global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A 712 review. **Environ. Int.**, 74, 291–303, 2015.

OECD. Test No. 245: Honey Bee (*Apis Mellifera* L.), Chronic Oral Toxicity Test (10-Day Feeding).

OECD. Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. 8pp, 1987.

OECD. Test No. 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test. 7pp, 1998.

OLIVEIRA, R.A., ROAT, T.C., CARVALHO, S.M., MALASPINA, O. Side-effects of thiametoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Environ. Toxicol.** V. 29, n. 2, 1122-1133, 2013.

ROAT, T.C., CARVALHO, S.M., NOCELLI, R.C., SILVA-ZACARIN, E.C., PALMA, M.S., MALASPINA, O. Effects of sublethal dose of fipronil on neuron metabolic activity of Africanized honeybees. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** V. 64, n .3, 456-466, 2013.

ROCHA, M.C.L.S.A. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres do Brasil. **IBAMA**. V. 1, p. 1-88, 2012.

ROSELINO, A.C.; SANTOS, S.A.B.; BEGO, L.R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista brasileira de Biociência**. V. 8, p. 154-158, 2010.

SOARES, H.M.; JACOB, C.R.O.; CARVALHO, S.M.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O. Toxicity of Imidacloprid to the Stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera: Apidae). **Bulletin Environ Contam Toxicol**, v. 94, n. 6, p. 675-680, 2015.

SPARKS, T.C.; NAUEN, R. IRAC: mode of action classification and insecticide resistance management. *Pest. Biochem. Phys.*, v. 121, p. 122-128, 2015.

TOMÉ, H.V.V.; MARTINS, G.F.; LIMAS, M.A.P.; CAMPOS, L.A.O.; GUEDES, R.N.C. Imidachloprid-induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Plos one**. 7: 1-9, 2012.

TOMIZAWA, M.; YAMAMOTO, M. Structure-activity relationships of nicotinoids and imidacloprid analogs. *J. Pest. Sci.*, 18, 91-98, 1993.

Van ENGELSDORP, D.; EVANS, J. D.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B. K.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D. R.; PETTIS, J. S. Colony collapse disorder: A descriptive study. **Plos one**. 4: 1-17, 2009.