MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

DAYSON CASTILHOS

DESAPARECIMENTO E MORTE DE ABELHAS NO BRASIL, REGISTRADOS NO APLICATIVO BEE ALERT

MOSSORÓ – RN
2018

DAYSON CASTILHOS

DESAPARECIMENTO E MORTE DE ABELHAS NO BRASIL, REGISTRADOS NO APLICATIVO BEE ALERT

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Departamento de Ciências Animais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves

Mossoró/RN

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

C352d Castilhos, Dayson.
Desaparecimento e morte de abelhas no Brasil, registrados no aplicativo Bee Alert / Dayson Castilhos. - 2018.
163 f. : il.

Orientador: Lionel Segui Gonçalves.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2018.

1. Morte massiva. 2. CCD. 3. Fipronil. 4. Neonicotinóides. 5. Apis mellifera. I. Segui Gonçalves, Lionel, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC´s) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

DAYSON CASTILHOS

DESAPARECIMENTO E MORTE DE ABELHAS NO BRASIL, REGISTRADOS NO APLICATIVO BEE ALERT

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Departamento de Ciências Animais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Aprovado em: 17/07/2018.

Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves
Presidente e Orientador – FFCLRP - USP

Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira
Examinador – DCAn - UFERSA

Prof. Dr. David De Jong
Examinador – FMRP - USP

Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva
Examinador – PROPPG - UFERSA

Prof. Dr. Alexandre Paula Braga
Examinador – DCAn - UFERSA

AGRADECIMENTOS

Em reconhecimento às pessoas que colaboraram com a execução desta tese cito: Alexandre Paula Braga, Alexandre Rodrigues Silva, Arthur David, Daniel Malusá Gonçalves, David De Jong, Diana Castilhos, Genevile Carife Bergamo, Jean Berg Alves da Silva, Jeferson Luiz Dallabona Dombroski, Kátia Peres Gramacho, Lionel Segui Gonçalves (orientador), Maria Juliana Ferreira Caliman, Moacir Franco de Oliveira, Nathalie Steinhauer, Neide Maria Malusá Gonçalves, Osmar Malaspina, Patrícia de Oliveira Lima e Tiago Maurício Francoy; as instituições BEE OR NOT TO BE, CETAPIS, EVA CRANE TRUST e UFERSA; os docentes e discentes da Apicultura, os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e finalmente os participantes da pesquisa que registraram suas ocorrências no aplicativo *Bee Alert*.

RESUMO: Dois grandes problemas apicultura atual são a morte massiva e o desaparecimento ou *CCD* (*Colony Collapse Disorder*) das abelhas, que estão causando o declínio populacional mundial dessas espécies. Em março de 2014, uma pesquisa *online* foi lançada na internet com o objetivo de avaliar a evolução dessas ocorrências no Brasil. Os casos ocorridos entre 1º de janeiro de 2013 até 31 de dezembro de 2016 puderam ser armazenados em um banco de dados eletrônico hospedado no *website* <http://www.semabelha semalimento.com.br/beealert>, bem como em aplicativos para *smartphones* e *tablets*, para que os colaboradores interessados fizessem seus registros. Um total de 247 participantes qualificados, confirmados e validados concluíram os questionários e foram aceitos para compor o banco de dados do aplicativo *BEE ALERT* nesse período. Em visitas a esses apiários, 38 amostras de abelhas mortas puderam ser coletadas para análises de resíduos de agrotóxicos por espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS). As análises estatísticas mostraram que os agrotóxicos são reportados como os principais responsáveis pelas mortes em massa e *CCD* no país. A perda total de colônias calculada para o período (2013–2016) foi de 52,2% com (95% IC 48,3–56,0%) e perda média de 62,0% com (95% IC 57,9–66,1%). Os neonicotinóides e o fipronil lideram a lista dos agrotóxicos com 37,7% dos casos e o estado de São Paulo detém 47% dos registros de mortes e desaparecimento de colônias de abelhas no Brasil. As análises químicas mostraram maiores contaminações múltiplas para o fipronil com frequência de 68,4% e amplitude de (0,5–23.539,7 ng/g), tiametoxam 42,1% e (0,6–13,6 ng/g), dinotefuran 42,1% e (0,6–205,0 ng/g), imidaclopride 28,9% e (2,4–16,2 ng/g), nitenpiram 5,3% e (3,8–7,4 ng/g), acetamipride 5,3% e (1,3–2,1 ng/g) e tiaclopride 2,6% (1,6 ng/g). Os resíduos de neonicotinóides e o fipronil tiveram maior frequência e amplitude em abelhas coletadas próximas a plantações de cana-de-açúcar e pomares de laranja no noroeste de São Paulo e outras regiões agroindustriais do país. A abelha africanizada (*Apis mellifera*) e a abelha nativa jataí (*Tetragonisca angustula*) são as espécies mais prejudicadas. Esses agrotóxicos sistêmicos são os principais mecanismos de morte em massa e desaparecimento das abelhas no Brasil, segundo esta pesquisa.

Palavras-chave: Morte massiva. *CCD*. Fipronil. Neonicotinóides. *Apis mellifera*. *Tetragonisca angustula*.

ABSTRACT: Two major problems in today beekeeping are the mass death and *CCD* (*Colony Collapse Disorder*) of bees, which are causing the world population decline of these species. In March 2014, an online survey was launched in order to assess the evolution of bee mass death and *CCD* events in Brazil. Colony losses happened from January 1st, 2013 to December 31st, 2016 were accepted to be posted in a web survey hosted in <http://www.nobeenofood.com/beealert>, as well as in apps. for smartphones and tablets, from interested collaborators to make their registrations. 247 qualified, confirmed and validated participants completed the questionnaires and were accepted to compose the BEE ALERT application database in that period. During visits to these apiaries, 38 dead honeybee samples were collected for analyses of pesticide residues by means of mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). Statistical analysis showed that pesticides are reported as the main cause of mass deaths and CCD in the country. Total colony loss calculated for the period (2013-2016) was 52.2% with (95% CI 48.3-56.0%) and mean colony loss was 62.0% with (95% CI 57.9-66.1%). Neonicotinoids and fipronil lead pesticide lists (37.7%) and São Paulo state holds 47% of honeybee casualties in Brazil. Toxicological analyses showed multiple contamination by fipronil with frequency of 68.4% and amplitude of (0.5-23.539,7 ng/g), thiamethoxam 42.1% and (0.6-13.6 ng/g), dinotefuran 42.1% and (0.6-205.0 ng/g), imidacloprid 28.9% and (2.4-16.2 ng/g), nitenpyram 5.3% and (3.8 -7.4 ng/g), acetamiprid 5.3% and (1.3-2.1 ng/g) and thiacloprid 2.6% (1.6 ng/g). Neonicotinoids and fipronil residues had higher frequencies and amplitude in honeybees collected near sugarcane plantations and orange orchards in northwest São Paulo and other agro industrial rural landscapes. Africanized honeybee (*Apis mellifera*) and the native bee jataí (*Tetragonisca angustula*) were the most harmed species. These systemic pesticides are the main mechanisms of mass death and disappearance of bees in Brazil, according to this research.

Keywords: Mass death. *CCD*. Fipronil. Neonicotinoids. *Apis mellifera*. *Tetragonisca angustula*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos agrotóxicos quanto à toxicidade em humanos 29

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos dos neonicotinóides e do fipronil 42

Tabela 3 – Toxicidade (em abelhas) dos neonicotinóides e do fipronil comparados ao DDT 44

Tabela 4 – Efeito da letalidade do imidaclopride nas abelhas melíferas 46

Tabela 5 – Propriedades dos analitos usados na pesquisa 71

Tabela 6 – Tempos de retenção e parâmetros de aquisição otimizados do UHPLC-MS/MS para os agrotóxicos analisados e os padrões internos 74

Tabela 7 – Método de produção da atividade apícola dos participantes da pesquisa 79

Tabela 8 – Pasto apícola agrupado de acordo com as características ambientais da região 80

Tabela 9 – Relação entre as ocorrências e as causas das perdas 81

Tabela 10 – Agrotóxicos reportados na pesquisa e seus grupos químicos 82

Tabela 11 – Total, mediana, média e teste de normalidade para as variáveis *tc* e *td* 82

Tabela 12 – Perdas anuais e no período e seus intervalos de confiança 83

Tabela 13 – Ocorrências, perda total (*PT*) e perda média (*PM*) por região e seus intervalos de confiança 86

Tabela 14 – Número de colônias (N), seus percentuais com reduções de 30 e 60% e perda total por região 86

Tabela 15 – Perda total e perda média pelo tamanho da operação 89

Tabela 16 – Resultados da análise *PERMANOVA* 90

Tabela 17 – Desempenho do método analítico para cada pesticida analisado 92

Tabela 18 – Medidas descritivas dos agrotóxicos detectados nas 38 amostras 93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular dos compostos primários organoclorados 27

Figura 2 – Mecanismo de interação entre o agente tóxico e o organismo animal exposto 30

Figura 3 – Plantação de tabaco e estrutura molecular da nicotina 36

Figura 4 – Epibatidina, ABT-594 e desnitroimidaclopride 37

Figura 5 – Estruturas moleculares dos neonicotinóides comerciais 38

Figura 6 – Estrutura molecular do pirazol, fenilpirazol e fipronil 42

Figura 7 – Registros de *CCD* (colmeias com mel, porém totalmente sem abelhas), *Apis* em Altinópolis, SP e *Melipona* em São Clemente, PR 68

Figura 8 – Distribuição georreferenciada das perdas de colônias no Brasil 85

Figura 9 – Percentuais de utilização de agrotóxicos em relação ao número total de agroindústrias por município comparados aos registros do *Bee Alert* 88

Figura 10 – Localização dos pontos de coleta de amostras de abelhas mortas por agrotóxicos 91

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Percentual de visitantes cadastrados, de participantes válidos e de participantes excluídos da amostra 76

Gráfico 2 – Percentuais dos registros de ocorrências válidos por atividade apícola 77

Gráfico 3 – Percentuais dos registros válidos para a pesquisa efetuados por estado 77

Gráfico 4 – Posse das propriedades em que os participantes da pesquisa exercem a atividade apícola 78

Gráfico 5 – Acumulado de perdas mensais de colônias, considerando o período de 2013 a 2016 80

Gráfico 6 – Reduções na população de colônias por região 87

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

~ – til, símbolo de "aproximadamente"

– *octothorpe*, símbolo de "número"

% – símbolo de percentual

∑ – símbolo de somatório

> – símbolo de maior

< – símbolo de menor

≥ – símbolo de maior ou igual

≤ – símbolo de menor ou igual

ABT-594 – Tebaniclina ou Ebaniclina. Nicotinóide sintético não-opióide e forte analgésico, desenvolvido pela Abbot. Menos tóxico que a epibatidina e 200 vezes mais potente que a morfina. Nome IUPAC: 5-{[(2*R*)-Azetidin-2-yl]methoxy}-2-chloropyridine

ACN – acetonitrila

APIMONDIA – International Apicultural Congress (Congresso Internacional de Apicultura)

APA – Áreas de Proteção Ambiental

APP – Áreas de Preservação Permanente

B1 – bomba 1

B2 – bomba 2

BEE ALERT – aplicativo integrante do *website* <http://www.semabelhasemalimento.com.br>

BEE OR NOT TO BE – Organização não governamental de proteção às abelhas

BHC – Benzenohexacloro

C – símbolo do átomo de carbono

C-18 – *silica gel C-18 base material* (material à base de sílica-gel C-18)

^{o}C – símbolo de grau centígrado na escala Celsius de temperatura

CAS – Chemical Abstracts Service

CCD – Colony Collapse Disorder

CBA – Confederação Brasileira de Apicultura

CE – Commonwealth Europe (Mercado Comum Europeu)

CE – collision energy (energia de colisão)

CETAPIS – Centro Tecnológico de Apicultura e Meliponicultura do Rio Grande do Norte

CI – confidence interval (intervalo de confiança)

Cl – símbolo do átomo de cloro

CL_{50} – Concentração Letal (concentração mínima necessária para matar 50% dos organismos tratados)

CNTP – condições normais de temperatura e pressão

Coef. – coeficiente

Const. - constante

DDT – diclorodifeniltricloroetano

(DDT/sist.) – razão entre as doses letais do DDT versus inseticida sistêmico

dissoc. – dissociação

DL_{50} – dose letal (dose necessária para matar 50% dos organismos tratados)

DNA – *DeoxyriboNucleic Acid* (ácido desoxirribonucleico)

dp – desvio padrão

DP – *declustering potential* (potencial de dissociação)

dpr – desvio padrão relativo

d-SPE – *dispersive-Solid Phase Extraction* (extração dispersiva de fase sólida)

DT_{50} – *decay time* 50% (tempo de meia-vida)

DWV – Deformed Wing Virus (vírus da asa deformada)

EC – European Commission (Comissão Europeia), órgão executivo que defende os interesses da União Europeia.

EC_{50} – *Effect Concentration* (concentração com efeito mínimo em 50% da amostra tratada)

eV – elétron volt

ESI – *electron spray injection* (injeção de feixe de elétrons)

F – estatística pseudo-F

FFLCH – Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas

FILAPI – Federación Ibero-Latino-Americana de Apicultura

g – grama

g – força da gravidade

g = RCF (*Relative Centrifuge Force*); $g = 1{,}12 \times r_{(mm)} \times (rpm/1000)^2$

GABA – Gamma Amino Butyric Acid (ácido gama-amino-butírico)

(g/ha) – grama por hectare

(g/L) – grama por litro

g.l. – graus de liberdade

GLM – Generalized Linear Model (modelo estatístico linear generalizado)

(g/mol) – grama por mol, massa molar

GPS – Global Positioning System (Sistema de Posicionamento Global)

GUS – *Groundwater Ubiquity Score* (escala de espalhamento das águas subterrâneas)

HHC – Hexanohexacloro

H_2O – símbolo químico da água

IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis

IC – intervalo de confiança

INPEV – Instituto Nacional de Processamento de Embalagens Vazias

Índ. – Índice

IS – *Internal Standard* (padrão interno)

km – quilômetro

kV – quilovolt

L – litro

LAEV – Laboratório de Ecofisiologia Vegetal

LC/MS – *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry* (cromatografia líquida e espectrometria de massa)

LC_{50} – *Lethal Concentration* (concentração mínima necessária para matar 50% dos organismos tratados)

LD – limite de detecção

LD_{50} – *Lethal Dose* (dose necessária para matar 50% dos organismos tratados)

L/h – litros por hora

lixiv. – lixiviamento

LOEC – *Lowest Observed Effect Concentration* (concentração mais baixa para que se possa produzir um efeito observado)

LQ – limite de quantificação

LSD – *Least Significant Difference* (diferença menos significativa)

log P_{ow} – coeficiente de partição octanol/água

mbar – milibarie (unidade de pressão)

MDL – *method detection limit* (limite de detecção do método)

µg/abelha – micrograma por abelha

µg/kg – micrograma por quilograma

mg/kg – miligrama por quilograma

µg/L – micrograma por litro

mg/L – miligrama por litro

mg – miligrama

mL – mililitro

µL – microlitro

mm – milímetro

μm – micrometro

min. – minuto

mix – mistura

MMA – Ministério do Meio Ambiente

MRM – *multiple reaction monitoring* (monitoramento de reação múltipla)

N – símbolo do átomo de nitrogênio

n – número de amostras, quantidade de amostras

nr – número de registros válidos

nAChRs – nicotinic AcetylCholine Receptors (receptores da nicotina-acetilcolina)

NF-κB – Nuclear Factor-kappa-light-chain-enhancer of B activated cells (fator nuclear potencializador κ de cadeia leve das células *B*- ativadas)

(ng/abelha) – nanogramas por abelha

(ng/g) – nanogramas por grama

NOEC – Non Observed Effect Concentration (concentração sem efeito observado)

octan. – octanol

OMS – Organização Mundial de Saúde

p – *p-value* (valor de p para testes estatísticos de significância)

part. – partição

PEC/PNEC – Predicted Environmental Concentration/Predicted No Effect Concentration (relação entre concentração ambiental prevista/concentração sem efeito previsto)

PERMANOVA – Permutational Multivariate Analysis of Variance (análise de variância multivariada por permutações)

pg - picograma

pH – potencial de Hidrogênio

pH 7 – potencial de Hidrogênio neutro para um composto químico

pK_a – constante de dissociação

PM – perda média ou média das perdas de colônias nas ocorrências

ppb – partes por bilhão

ppm – partes por milhão

Pr (>F) – valor de p

PSA – *Primary, Secondary Amide* (amida primária, secundária)

PT – total de perda de colônias nas ocorrências

PVDF – *Polyvinylidene fluoride, or polyvinylidene difluoride* (fluoreto de polivinilideno ou fluoreto de dipolivinilideno)

Q1 – precursor ion (íon precursor)

Q3 (1) – *quantification ion* (íon de quantificação do primeiro quadrupolo)

QM – quadrado médio

QuEChERS – Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe (Rápido Fácil Barato Eficiente Robusto Seguro)

r – raio

R – software estatístico de domínio livre (ver referências)

R^2 – coeficiente de determinação

r^2 – tamanho do efeito

RFID – Radio Frequency IDentification (identificação por rádio frequência)

rpm – rotações por minuto

RN-13 – rodovia estadual Mossoró-Tibau

s/ – sem

s/dissoc. – sem dissociação

SP – Estado de São Paulo

SQ – soma dos quadrados

tc – número total de colônias saudáveis antes da ocorrência

td – número de colônias que morreram na ocorrência

tR – retention time (tempo de retenção)

T_{50} – período de latência

UFERSA – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

UHPLC-MS/MS – *Ultra High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry* (Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência/Dupla Espectrometria de Massa)

USDA – United States Department of Agriculture

USP – Universidade de São Paulo

WCC – World Conservation Congress (Congresso Mundial sobre Conservação)

WHO – World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

WIA – Worldwide Integrated Assessment (Avaliação Integrada Global)

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO 17

2 OBJETIVOS 20
2.1 OBJETIVO GERAL 20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 20

3 REVISÃO DA LITERATURA 21
3.1 POLINIZAÇÃO E POLINIZADORES 21
3.2 AS ABELHAS 23
3.3 OS AGROTÓXICOS 24
3.4 OS INSETICIDAS SISTÊMICOS 30
3.4.1 Os Neonicotinóides e o Fipronil 36
3.5 A CONTAMINAÇÃO LETAL 43
3.5.1 Intoxicação aguda e crônica 43
3.6 A CONTAMINAÇÃO SUBLETAL 49
3.6.1 Síndrome do colapso da colônia - *CCD* (*Colony Collapse Disorder*) 63

4 MATERIAIS E MÉTODOS 69
4.1 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS 69
4.2 ANÁLISE TOXICOLÓGICA 70
4.2.1 Analitos e reagentes 70
4.2.2 Coleta das amostras 71
4.2.3 Preparação do d-SPE 72
4.2.4 Preparação das amostras 72
4.2.5 Parâmetros de UHPLC 73
4.2.6 Parâmetros de espectrometria de massas 73
4.2.7 Validação de método 74
4.2.8 Controle de qualidade 74
4.2.9 Quantificação dos analitos 75

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 76
5.1 ANÁLISE DOS DADOS 76
5.2 ANÁLISE TOXICOLÓGICA 91

6 CONCLUSÕES 95

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 97

8 REFERÊNCIAS 98

9 ANEXOS 152

1 INTRODUÇÃO

Dois dos maiores problemas atuais da apicultura são, sem dúvida, a morte em massa e o desaparecimento ou *CCD* (*Colony Collapse Disorder*) das abelhas, que vêm causando a diminuição da população mundial das espécies (GILL *et al*., 2012; GONÇALVES, 2012a, b). Esses fenômenos acontecem simultaneamente em vários países, com uma única exceção da Austrália, onde não têm sido observados (ENTINE, 2013; MORTON, 2014; ROBERTS *et al*., 2017), mas são motivo de grande preocupação pelas autoridades e cientistas do mundo inteiro, inclusive australianos (KRUPKE *et al*., 2012; PHILLIPS, 2015).

O fenômeno *CCD* foi observado inicialmente no outono de 2006, nos Estados Unidos (HACKENBERG, 2007; MILIUS, 2007) e paralelamente em alguns países da Europa (BIESMEIJER *et al*., 2006), sendo hoje identificado em vários países em quase todo o mundo (EASAC, 2015; JOHNSON *et al*., 2010; SCHACKER, 2008). Por muitos anos, apicultores e meliponicultores registravam perdas de colônias, porém no outono/inverno de 2006 as perdas foram muito altas, entre 30 e 90%, e os cientistas não conseguiam entender o fenômeno (VANENGELSDORP *et al*., 2007).

Nos Estados Unidos o número de colônias caiu de 5,9 para 2,4 milhões de 1947 a 2005 (NAS, 2007; NASS, 2008). Já os autores vanEngelsdorp *et al*. (2008), registraram perdas durante o inverno de 2007 para 2008 de aproximadamente um milhão de colônias de abelhas *Apis mellifera* em 23 estados americanos, com médias que oscilaram entre 7 e 56% (JOHNSON, 2010; VANENGELSDORP *et* al., 2008).

Na Europa o número de colônias de abelhas *Apis mellifera* foi reduzido de 21 milhões na década de 80 para 15 milhões em 2010 (VAN DER ZEE *et al*., 2012; 2013; 2014), ou 25% entre 1985 e 2005 (POTTS *et al*., 2010b).

Desde então, a morte e o desaparecimento das abelhas foram motivos de pesquisas, preocupações e prejuízos, inclusive no Brasil (DE JONG, 2010; DE JONG; MESSAGE, 2008; GONÇALVES, 2012a, b; IMPERATRIZ-FONSECA *et al*., 2012; MALASPINA *et al*., 2008; MALASPINA; SOUZA, 2008; MESSAGE, 2010; PIRES *et al*., 2016).

Na América do Sul, Antúnez *et al*. (2017) publicaram artigo sobre as perdas de colônias no Uruguai nos anos de 2013-2014 e registraram perda média anual de 28,6%.

Dentre todas as plantas angiospermas (que têm as sementes cobertas por um fruto

e se reproduzem através das flores) presentes na natureza, 87,5% utilizam os serviços de polinização feitos por animais (OLLERTON *et al*., 2011).

Os polinizadores são responsáveis por 75% das espécies agrícolas cultivadas para a produção de alimentos em 200 países (IPBES, 2016; KLEIN *et al*., 2007; ROCHA, 2012), além das áreas de vegetação não cultivadas como florestas, matas nativas, bosques e parques e pela grande biodiversidade da flora (EASAC, 2015).

Sabe-se que das mais de 100 espécies de culturas que fornecem 90% da oferta de alimentos para 146 países, 71 são polinizadas por abelhas (FAO, 2005). A diminuição do número de colônias de abelhas está impactando negativamente a atividade apícola, o agronegócio e os ecossistemas nos Estados Unidos, na França e em outros países (ALIX; VERGNET, 2007; ELLIS *et al*., 2010; JOHNSON, 2010; SOARES *et al*., 2015).

Estamos vivenciando uma crise mundial da apicultura devido ao declínio das abelhas polinizadoras e uma iminente crise alimentar no próximo século é prevista (ALEXANDRATOS; BRUINSMA, 2012; BROWN, 2003), com a população mundial contabilizando mais de 9,0 bilhões de habitantes até 2050 e com as mudanças climáticas desestabilizando os processos agrícolas (BROWN, 2003; FAO, 2010). Portanto, é notório o papel que as abelhas desempenham na polinização das plantas, sendo fundamental sua importância na superação da crise de alimentos (CALDERONE, 2012; KLEIN *et al*., 2007).

Embora haja uma grande controvérsia sobre as principais causas do aparecimento do *CCD* (STOKSTAD, 2007), vários são os fatores apontados como causadores desse fenômeno, como os ácaros, os vírus, os fungos, as mudanças climáticas, o *stress* ambiental e alimentar e com bastante destaque nos últimos anos vem se consolidando a ideia de que a principal causa sejam os agrotóxicos utilizados indiscriminadamente na agricultura (IBAMA, 2017; SÁNCHEZ-BAYO, 2014; SÁNCHEZ-BAYO *et al*., 2016). Os inseticidas sistêmicos neonicotinóides, disponibilizados comercialmente a partir de 1991 (GOULSON, 2013; KOLLMEYER *et al*., 1999; TOMIZAWA; CASIDA, 2011) e o fipronil, inseticida sistêmico pertencente ao grupo químico dos pirazóis (PPDB, 2016; TINGLE *et al*., 2003) são altamente tóxicos e quando usados em plantações próximas a apiários causam a morte e desordens comportamentais nas abelhas (HENRY *et al*., 2012a, b; LU *et al*., 2014).

Devido a esse aumento na frequência de casos de *CCD* e morte de abelhas no mundo (POTTS *et al*., 2010a) e no Brasil (GONÇALVES, 2012a, b), foi criada em 2013, na UFERSA - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, pelo CETAPIS-RN – Centro Tecnológico de Apicultura e Meliponicultura do Rio Grande do Norte, uma campanha de proteção às abelhas, *BEE OR NOT TO BE*, que se tornou internacional ao ser lançada também

no *43th International Apicultural Congress – APIMONDIA* 2013, em Kiev, na Ucrânia e no XI Congreso Latinoamericano de Apicultura – FILAPI 2014, em Puerto Iguazu-Misiones, Argentina (GONÇALVES, 2014).

Esta campanha tem como objetivos conscientizar a população sobre a importância das abelhas para o homem e o meio ambiente; mobilizar as lideranças do país para uma atitude imediata de apoio às ações que investiguem, identifiquem e combatam as causas do desaparecimento (*CCD*) e morte das abelhas; lançar um documento formal de apoio à causa das abelhas, o Manifesto em Favor à Proteção às Abelhas, que pode ser assinado no *website* <http://www.semabelhasemalimento.com.br>; posicionar a apicultura e a meliponicultor como um elo fundamental na cadeia produtiva agrícola, repercutindo a ideia de que a aplicação dos conceitos de sustentabilidade no campo deveria passar pelo respeito aos seus principais polinizadores, as abelhas; levar conceitos propositivos de como o apicultor, meliponicultor, pesquisador ou cidadão pode ajudar a proteger as abelhas (GONÇALVES; CASTILHOS, 2015a, b).

Ao atingir 23 mil assinaturas, em 2014, o manifesto foi entregue ao MMA - Ministério do Meio Ambiente e ao IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (GONÇALVES, 2015).

Assim, a análise dos dados sobre morte e desaparecimento de abelhas ocorridos no país, utilizando-se do aplicativo eletrônico *BEE ALERT*, disponível no *website:* <http:www.semabelhasemalimento.com.br/beealert> (GONÇALVES; CASTILHOS, 2015a, b) permitirá testar a hipótese que uso indiscriminado dos agrotóxicos, com ênfase nos inseticidas neonicotinóides e fipronil, é o principal causador das mortes e desaparecimentos de colônias de abelhas no Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar as ocorrências de morte ou desaparecimento de abelhas no Brasil, mediante o uso do aplicativo *BEE ALERT*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar as características e as possíveis causas de morte ou desaparecimento das abelhas nas ocorrências constantes no banco de dados do aplicativo *BEE ALERT*.
2. Estimar as localizações, frequências, espécies de abelhas atingidas, causas das ocorrências, tipos de agrotóxicos, perdas de colônias, prejuízos financeiros, ambientais e sociais.
3. Identificar as áreas de incidência das ocorrências, suas correlações com as culturas agrícolas regionais e o tipo de pasto apícola.
4. Identificar e quantificar por meio de cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS) os resíduos de neonicotinóides e fipronil em amostras de abelhas mortas, coletadas durante visitas aos locais das ocorrências.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 POLINIZAÇÃO E POLINIZADORES

Polinização é a transferência de pólen entre as partes masculina e feminina das flores, permitindo assim a fertilização e a reprodução vegetal (EDWARDS; WRATTEN, 1981). 87,5% das plantas silvestres angiospermas, aproximadamente 308 mil espécies (OLLERTON *et al*., 2011), dependem de alguma maneira de um vetor animal, denominado polinizador, para transferir o pólen e se reproduzirem (KLEIN *et al*., 2007). Outros meios de polinização natural também são possíveis como a autopolinização, o vento e a água (FAO, 2005; MICHENEAU *et al*., 2008; WILLIAMS, 1978).

Neste início de século, os polinizadores e seus serviços de polinização têm sido de grande interesse para vários setores da atividade humana. Tudo isso porque se percebeu que esses animais, em especial as abelhas, prestam um serviço inigualável, gratuito e de grande valor para a agricultura e os ecossistemas. Ocorre que acontecimentos antrópicos e naturais têm concorrido para o declínio desses polinizadores. Mudanças climáticas e ameaças resultantes da ação do homem modificando o meio ambiente têm causado uma queda vertiginosa na abundância dos organismos polinizadores (WATSON, 2016).

A importância econômica, social e ambiental desses polinizadores é indiscutível. Sabe-se que 75% das plantações destinadas à alimentação e 90% de todas as plantas angiospermas são visitadas por polinizadores. Por isso, sua conservação se torna crítica (CONTIERO; ACHTERBERG, 2017; KLEIN *et al*., 2007). Diz Silva (2016):

> Os serviços de polinização são um "aporte para a agricultura", pois garantem a produção de alimentos. Todos os envolvidos no setor agrícola, especialmente a agricultura familiar e o pequeno e médio empreendimento agrícola ao redor do mundo se beneficiam desses serviços. Aumentando a densidade populacional desses polinizadores e sua diversidade, os resultados positivos na produção de culturas agrícolas serão imediatos, promovendo segurança nutricional e alimentar. Desta maneira, priorizar a polinização agrícola é importante para se atingir as metas de desenvolvimento sustentável e ajudar a agricultura familiar a se adaptar às mudanças climáticas (SILVA, 2016; FAO, 2016b; tradução do autor).

Segundo relatório do IPBES (2016), os valores dos polinizadores e da polinização podem ser mensurados. Entende-se por valor tudo aquilo que, objetiva ou subjetivamente, acrescenta algo ao objeto da pesquisa, seja tangível, fungível ou não (DÍAZ *et al*., 2015). Nove tópicos relatam esses valores como segue:

1. Os polinizadores desempenham papel vital na natureza com a regulação dos serviços aos ecossistemas, pois cerca de 90% das plantas com flores dependem dele para se reproduzirem (PRICE *et al.*, 2011).

2. Mais de 75% das culturas agrícolas dependem dos polinizadores para o aumento da produção ou o melhoramento da qualidade dos produtos. Do volume da produção agrícola anualmente comercializado no mundo, sabe-se que 35% dependem diretamente dos polinizadores (CONTIERO; ACHTERBERG, 2017; KLEIN *et al*., 2007; RICKETTS *et al*., 2008).
3. O valor de mercado global da produção anual de alimentos, estimada em até 8%, que é diretamente dependente dos polinizadores, gira em torno de 577 bilhões de dólares americanos (FAO, 2016b; IPBES, 2016; LAUTENBACH *et al*., 2012). Nos Estados Unidos, em 2010, os polinizadores contribuíram com um valor agregado ao produto de 29 bilhões de dólares (CALDERONE, 2012). Na Europa, no ano de 2015, o valor estimado do serviço de polinização foi de 14,6 bilhões de euros (EASAC, 2015). No Brasil, os polinizadores contribuem com cerca de 30% do valor anual da produção agrícola, aproximadamente 12 bilhões de dólares americanos, quando a produção anual das culturas agrícolas dependentes da polinização foi de 45 bilhões de dólares americanos (GIANNINI *et al*., 2015).
4. A importância da polinização animal se reflete na contratação de mão de obra para a agricultura, representando a criação de emprego e renda para milhões de pessoas, tanto em países desenvolvidos, quanto em países em desenvolvimento (CHAPLIN-KRAMER *et al*., 2014; FAO, 2015; USDA, 2014).
5. Os polinizadores são importantes contribuidores para a saúde humana e animal, pela disponibilização de nutrição adequada, dietas mais saudáveis, fibras e abrigo (CALDERONE, 2012; FAO, 2016a).
6. A maioria dos polinizadores são silvestres e mais de 20 mil espécies de abelhas polinizam 90% das flores; moscas polinizam 30% e o restante como borboletas, mariposas, vespas, besouros, lacerdinhas (*thrips*), mosquitos, gorgulhos, pássaros, répteis, morcegos, primatas, marsupiais e roedores polinizam 6%. Dentre as abelhas polinizadoras incluem-se as melíferas, as mamangavas, as sem ferrão e as solitárias. Em nível global sabe-se que existem 81 milhões de colônias de abelhas melíferas manejadas, que produzem cerca de 1,6 milhões de toneladas de mel anualmente (IPBES, 2016; KLEIN *et al*., 2007).
7. Como as polinizações entre as culturas não são exatamente iguais umas às outras e algumas têm seus polinizadores específicos, sabe-se que a diversidade dos vetores contribui para o aumento da produção agrícola, tanto quanto mais abundante for essa variedade (FAO, 2005; POTTS *et al*., 2010a; FRÜND *et al*., 2013).

8. Outros benefícios da polinização e dos polinizadores além da produção de alimentos são: a medicina, os biocombustíveis, as fibras, os materiais de construção, os instrumentos musicais, as artes e artesanatos, as atividades recreativas, a religião, as tradições, a tecnologia e a educação (DAILY, 1997; DAILY *et al*., 1997; CUNHA *et al*., 2014; CASTILHOS, 2014; VILLAS-BÔAS, 2012).
9. A qualidade de vida também se beneficia dos polinizadores e da polinização. Interações entre entidades públicas e privadas, congressos e convenções, associações e comitês, fazem parte dessas relações sociais (FAO, 2015).

Apesar de todos esses serviços gratuitos fornecidos pelos polinizadores, as evidências indicam que o declínio dessa população é uma realidade em todo o planeta (FAO, 2005). Além da polinização da flora nativa, a demanda por polinizadores na produção de alimentos vem crescendo nos últimos 20 anos e com a redução dessa população, cuidados devem ser urgentemente tomados para que um colapso dos polinizadores não se concretize (BREEZE *et al*., 2011).

No Brasil, poucos estudos têm sido feitos sobre o declínio dos polinizadores e suas consequências para o futuro (FREITAS; PINHEIRO, 2012; ROCHA, 2012; SILVA *et al*., 2015). A adoção de técnicas gerenciais com foco na proteção aos polinizadores e seus serviços, que agregam valor aos ecossistemas e aumentam a produtividade das práticas agrícolas tradicionais devem ser estimuladas (GIANNINI *et al*., 2015).

As políticas públicas de proteção aos polinizadores podem ser conhecidas no Ofício n.º 51/2015/DQAM/SMCQ/MMA, de 29 de junho de 2015, "Resposta à Petição pela Proteção às Abelhas, Dossiê da Campanha SEM ABELHA SEM ALIMENTO, da Organização *BEE OR NOT TO BEE*, que relata os resultados aferidos pelo aplicativo *BEE ALERT*" (MMA – MINISTÉRO DO MEIO AMBIENTE, 2015) (ANEXO I).

3.2 AS ABELHAS

Dentre todos os polinizadores disponíveis na natureza as abelhas são os seus maiores e melhores representantes (POTTS *et al*., 2010a). Elas polinizam 75% de todas as plantações agrícolas, sendo responsáveis diretas por 35% das colheitas agrícolas anualmente (CONTIERO; ACHTERBERG, 2017; KLEIN *et al*., 2007; USDA, 2014).

Dentre as mais de 20.230 espécies de abelhas catalogadas temos vários gêneros, espécies e subespécies que cumprem a função de polinização de todas as plantas angiospermas do planeta (ASCHER; PICKERING, 2017). As abelhas são responsáveis por

aproximadamente 90% da polinização de mais de 352 mil espécies de plantas floríferas (WATSON, 2016).

Klein *et al*. (2007) estudaram o comportamento dos polinizadores em um experimento de campo e concluíram que das 107 culturas agrícolas observadas, as abelhas melíferas manejadas ou silvestres, abelhas sem ferrão, abelhas solitárias e mamangavas polinizavam 35 dessas culturas (32,7%).

Segundo Michener (2000), as abelhas podem ser agrupadas quanto às suas características de várias maneiras:

- Nativas ou exóticas
- Melíferas ou não melíferas
- Solitárias na maioria (*Centris spp*., *Eulaema spp*., *Tetrapedia spp*., *Eufriesea spp*., etc.), eussociais (*Apini*, *Meliponini*) e semissociais (*Bombini*, *Halictinae*, *Xylocopinae*)
- Generalistas, todas as abelhas sociais e a maioria das abelhas solitárias, pois visitam todas as flores disponíveis em busca de néctar e pólen
- Especialistas (minoria das abelhas solitárias), que visitam exclusivamente flores de algumas poucas plantas.

Essa característica de inter-relação entre planta e abelha é de vital importância, pois a diversidade e abundância das abelhas na condição de maiores e melhores representantes dos polinizadores, pois servem como bioindicador da saúde do bioma, confirmando que os ecossistemas estão em equilíbrio sustentável (COUVILLON; RATNIEKS, 2015; KEVAN, 1999; ROLLIN *et al*., 2016).

O desequilíbrio percebido pela morte em massa e desaparecimento de colônias de abelhas devido ao uso indiscriminado de agrotóxicos nas culturas agrícolas, com ênfase nos inseticidas sistêmicos neonicotinóides e fipronil, devem ser medidos e analisados para se confirmar contaminações letais e subletais a esses insetos indispensáveis à manutenção do equilíbrio sustentável dos ecossistemas (EASAC, 2015; EFSA, 2015a, b, c; EFSA, 2016a, b; WOOD; GOULSON, 2017).

3.3 OS AGROTÓXICOS

As designações para produtos que combatem as pragas são motivo de dúvidas e questionamentos ao leigo. Cabe discorrer sobre o assunto formando uma linha de raciocínio até chegarmos ao objetivo final que é explicar da melhor maneira possível o que são os agrotóxicos (NPIC, 1999).

Internacionalmente a denominação *pesticide* (pesticida, praguicida) é mais usada na literatura científica ou técnica. A OMS – Organização Mundial da Saúde diz:

> Pesticidas são componentes químicos usados para matar pragas, incluindo insetos, roedores, fungos, plantas indesejáveis (ervas daninhas). Pesticidas são usados em saúde pública para matar vetores de doenças, como mosquitos e na agricultura para matar pragas que danificam as plantações. Por sua natureza, os pesticidas são potencialmente tóxicos aos outros organismos, inclusive aos humanos, precisam ser usados com segurança e descartados adequadamente (WHO, 2015; tradução do autor).

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com as pragas que eles combatem (US-EPA, 2014):

- acaricidas: produtos que combatem os ácaros
- bactericidas: produtos que combatem as bactérias
- fungicidas: produtos que combatem os fungos
- herbicidas: produtos que combatem as ervas daninhas
- inseticidas: produtos que combatem os insetos
- nematicidas: produtos que combatem os nematoides
- rodenticidas: produtos que combatem os roedores
- moluscicidas: produtos que combatem os moluscos.

O termo *pesticide* difere de *agrochemical* pelo fato de que a este último também estão incluídos os inibidores, os desfolhantes, os dessecantes e os fertilizantes usados na produção agrícola (US-EPA, 2016).

Na língua portuguesa, com características fonéticas brasileiras, o termo "agroquímico" também é usado (PERES; MOREIRA, 2003), mas prevalece o termo "agrotóxico" (BRASIL, 1989). Segundo a legislação brasileira que dispõe sobre os agrotóxicos, lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, no seu artigo 2º, para os efeitos da lei, consideram-se:

> I - agrotóxicos e afins:
>
> a) os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos;
>
> b) substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento;

> II - componentes: os princípios ativos, os produtos técnicos, suas matérias-primas, os ingredientes inertes e aditivos usados na fabricação de agrotóxicos e afins (BRASIL, 1989).

Historicamente tem-se conhecimento do uso de agrotóxicos há mais de 3.000 anos onde sumérios, gregos e romanos mencionavam o uso de produtos químicos inorgânicos como o enxofre e o arsênio no combate a insetos e pulgões que atacavam as plantações de trigo. Daí até os dias atuais usou-se uma sucessão de compostos altamente tóxicos como o chumbo, o cobre e o mercúrio; princípios ativos naturais à base de nicotina, extraída do tabaco (*Nicotiana tabacum*), de piretrina, derivada do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), uma espécie de margarida, e da rotenona extraída da casca e raiz do cipó-timbó (*Derris elliptica*) (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012; CARSON, 1962).

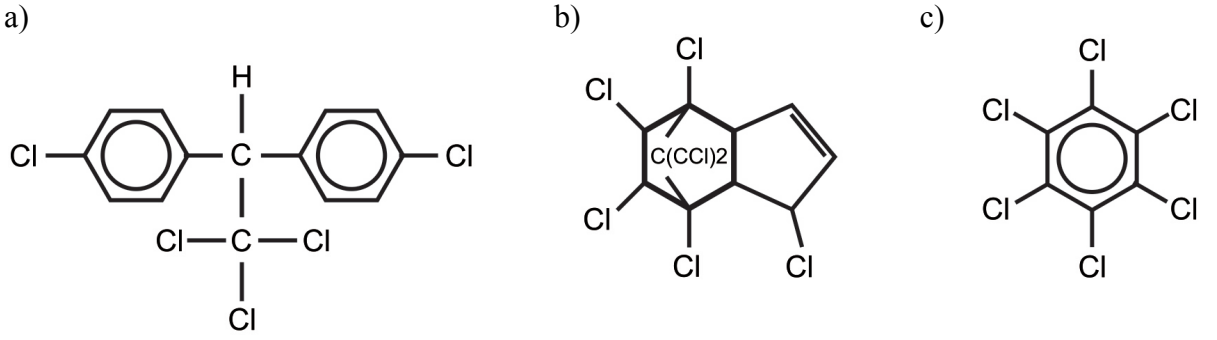
O período entre a Primeira e a Segunda Guerra Mundial foi de intensa atividade na pesquisa de produtos químicos que não tivessem os efeitos devastadores, para ambos os lados, dos gases venenosos usados durante a Primeira Guerra. Com a conclusão de que "o que mata gente, também mata insetos", começaram a surgir novas fórmulas de inseticidas. A Bayer criou os ésteres do ácido fosfórico que mais tarde deu origem ao Parathion (MATIAS, 2011). Com o advento da Química Orgânica para fins bélicos durante a Segunda Guerra Mundial, os compostos à base de carbono (C) passaram a fazer parte dos novos inseticidas sintéticos.

O marco da inovação no combate às pragas, o DDT (*diclorodifeniltricloroetano*), foi sintetizado pela primeira vez pelo químico austríaco Othmar Zeidler (1874) e por não ter encontrado utilidade prática para seu invento conservou a fórmula desconhecida por 65 anos. Foi quando em 1939, o suíço Paul Herman Müller trabalhando para a Geigy e pesquisando sobre trabalhos anteriores utilizou a fórmula para combater o mosquito causador da malária (*Anopheles sp*.), que até hoje vem prejudicando a saúde humana.

Com essa redescoberta, Müller (1948) ganhou o Prêmio Nobel (CARSON, 1962; MATIAS, 2011). Esse composto químico classificado como "organoclorado" é sintetizado através da reação química entre o cloral e o clorobenzeno, usando-se o ácido sulfúrico como catalisador da reação. O DDT (Figura 1a) é sólido em condições normais de temperatura e pressão, insolúvel na água, solúvel em lipídios e de odor leve. Começou a ser usado em 1943, durante a Segunda Guerra Mundial, para combater as infestações de piolhos nos soldados americanos em missões na Europa, África e Ásia (BRANCO, 2013). De 1943 até 1958 o DDT reinou absoluto no mercado de inseticidas mundial, passando a ser chamado de

inseticida “salva-vidas”. De fácil manejo, sem efeitos colaterais imediatos e resultados rápidos, foi saudado como a salvação contra os insetos pragas.

Figura 1 – Estrutura molecular dos compostos primários organoclorados



DICLORODIFENILTRICLOROETANO CICLODIENOS CICLOHEXANOS

Fonte: MAJID, 1996.

A partir dos anos 50 começaram as observações e as pesquisas sobre o DDT e seus correlatos, o BHC (ciclodienos) (Figura 1b) e o HHC (benzenoclorados ou ciclohexanos) (Figura 1c). Começou-se a perceber resistências de insetos aos efeitos desses agrotóxicos, efeitos colaterais crônicos, resíduos em todos os órgãos do corpo humano, inclusive no leite materno (SMITH, 1999), mortes de insetos, pássaros e peixes não alvos dos inseticidas, culminando com o lançamento do livro de Rachel Carson, “Primavera Silenciosa”, em 1962, em que a bióloga denunciava o DDT como o “elixir da morte” (JARDIM; ANDRADE, 2009).

A proibição do uso do DDT aconteceu paulatinamente em vários países. Na Suíça, país de origem, seu uso nunca foi autorizado, desde 1939; na Suécia e Finlândia, em 1970 e nos Estados Unidos foi banido em 1972 (WHO, 1979).

No Brasil, foi banido para a agricultura em 1985 (BRASIL, 1985), mas somente em 2009 o DDT teve sua fabricação, importação, exportação, manutenção em estoque, comercialização e uso proibidos pela Lei nº. 11.936 de 14 de maio de 2009 (BRASIL, 2009).

Em maio de 2001, 91 países e a Comunidade Europeia assinaram um tratado em Estocolmo, para banir 12 poluentes orgânicos persistentes, os chamados "dúzia suja". Foram proibidos nove no total. Para o DDT, o tratado permitiu a sua utilização na borrifação intradomiciliar para fins de saúde pública, mas apelou para a sua gradual eliminação. A isenção do DDT, que tinha sido contestada por grupos ambientalistas, mas apoiada por infectologistas (pesquisadores da malária e outras doenças infectocontagiosas), permitiu que países dependentes do DDT continuassem a usá-lo. Mas a orientação do tratado de Estocolmo

foi de desencorajar o fornecimento de recursos financeiros para a produção de DDT (ROSENBERG, 2004).

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com os grupos químicos que as moléculas pertencem e de acordo com as suas toxicidades. Quanto aos seus grupos químicos os mais conhecidos, já banidos ou ainda usados, até o momento são os organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, neonicotinóides e pirazóis.

Os organoclorados têm como principais compostos primários o cloral, o clorobenzeno, os ciclodienos e o ciclohexanos. Dessas matrizes se originam o DDT (diclorodifeniltricloroetano), o BHC (lindane), o HHC (aldrin) e seus metabólitos, que são compostos orgânicos que apresentam átomos de cloro (Cl) nas ligações covalentes da molécula aromática. São compostos extremamente tóxicos com grande facilidade de se acumular na cadeia alimentar proporcionando uma contaminação crônica, isto é, demoram meses e até anos para que os efeitos maléficos da contaminação se manifestem no organismo (MAJID, 1996; PERES; MOREIRA, 2003).

Os organofosforados (Parathion, Malathion, Orthene e Bidrin) são ésteres (substâncias resultante da reação de um ácido orgânico e um álcool) do ácido fosfórico. Apresentam menor toxicidade quando comparados com os organoclorados, porém o modo de contaminação se dá através de todos os meios possíveis nos seres vivos (mucosas, respiração, ingestão e contato com a superfície externa do organismo vivo). Não são cumulativos, são insolúveis em água, mas seus efeitos maléficos se manifestam imediatamente no organismo com toxicidade aguda (HARGREAVES, 2007; SINHA; SHARMA, 2003).

Os carbamatos (Carbaryl, Methomil e Furadan) são ésteres do ácido carbâmico. Os carbamatos são na maioria das vezes sintetizados a partir dos organofosforados; de toxicidade aguda média, apresentam baixa intensidade de acumulação no meio ambiente, insolúveis em água e pouca absorção pelos mamíferos. Geralmente são usados para manter as colheitas de grãos livres de insetos quando estocados por um longo período (HARGREAVES, 2007; MAJID, 1995).

Os piretróides (Ripcord, Talcord, Belmark) são produtos químicos sintetizados a partir do princípio ativo da "piretrina", natural da flor da espécie *Chrysanthemum cinerariefolium* e é um éster do ácido crisantêmico. Os piretróides são altamente tóxicos aos insetos aéreos e por sua característica de alta solubilidade em água se tornam extremamente mortais a todos os animais aquáticos (HARGREAVES, 2007; MAJID, 2000).

Os neonicotinóides compõem a nova geração de agrotóxicos sintéticos. Atualmente são utilizados comercialmente sete produtos desse grupo químico: acetamipride,

clotianidina, dinotefuran, imidaclopride, nitenpiram, tiaclopride e tiametoxam (JESCHKE *et al*., 2011). Seus índices de contaminação são extremos e suas toxicidades são até 10.000 vezes mais letais que o DDT (BONMATIN, 2009; GOULSON, 2013). Esses agrotóxicos contemporâneos podem penetrar e permanecer na planta através de seus sistemas floêmico (que conduz os nutrientes das folhas para a raiz) e xilêmico (que conduz os nutrientes da raiz para as folhas). Por serem compostos sistêmicos, isto é, quando aplicados se espalham por todo o organismo vegetal, contaminam todos os animais que as visitam, sejam eles pragas, polinizadores, coletores de pólen, néctar, resina, seiva, raízes, folhas, flores, frutos ou sementes. Há uma preocupação crescente com respeito aos inseticidas neonicotinóides não somente pela sua ação fatal aos polinizadores (PISA *et al*., 2015), mas também aos outros seres vivos, como os que vivem em ambientes aquáticos (LIESS; VON DER OHE, 2005; MORRISSEY *et al*., 2015; SÁNCHEZ-BAYO; GOKA, 2012).

Os pirazóis pertencem à família dos 1,2-azóis. Azóis são heterocíclicos aromáticos pentagonais contendo um ou mais átomos de nitrogênio (N) (DAVIES, 1992) e dentro do contexto deste trabalho temos como seu maior representante o fipronil (fenilpirazol) que também é um inseticida sistêmico. Age do mesmo modo que os neonicotinóides penetrando nos sistemas floemático e xilemático das plantas. É muito usado como inseticida preventivo de pulverização foliar ou aplicado nos sulcos da terra antes que as sementes sejam plantadas. Desta maneira a planta passa a ter uma proteção sistêmica preventiva contra as pragas antes mesmo que elas eventualmente surjam (SIMON-DELSO *et al*., 2015).

Quanto à sua toxicidade em humanos, os agrotóxicos podem se classificar como: classe 1 (extremamente tóxicos), classe 2 (altamente tóxicos), classe 3 (moderadamente tóxicos) e classe 4 (pouco tóxicos) (Tabela 1). O índice de toxicidade é apresentado conforme o seu DL_{50} (dose letal, 50%), que é a capacidade que uma determinada substância tem de exterminar com pelo menos 50% da população que está sendo exposta (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Tabela 1 – Classificação dos agrotóxicos quanto à toxicidade em humanos

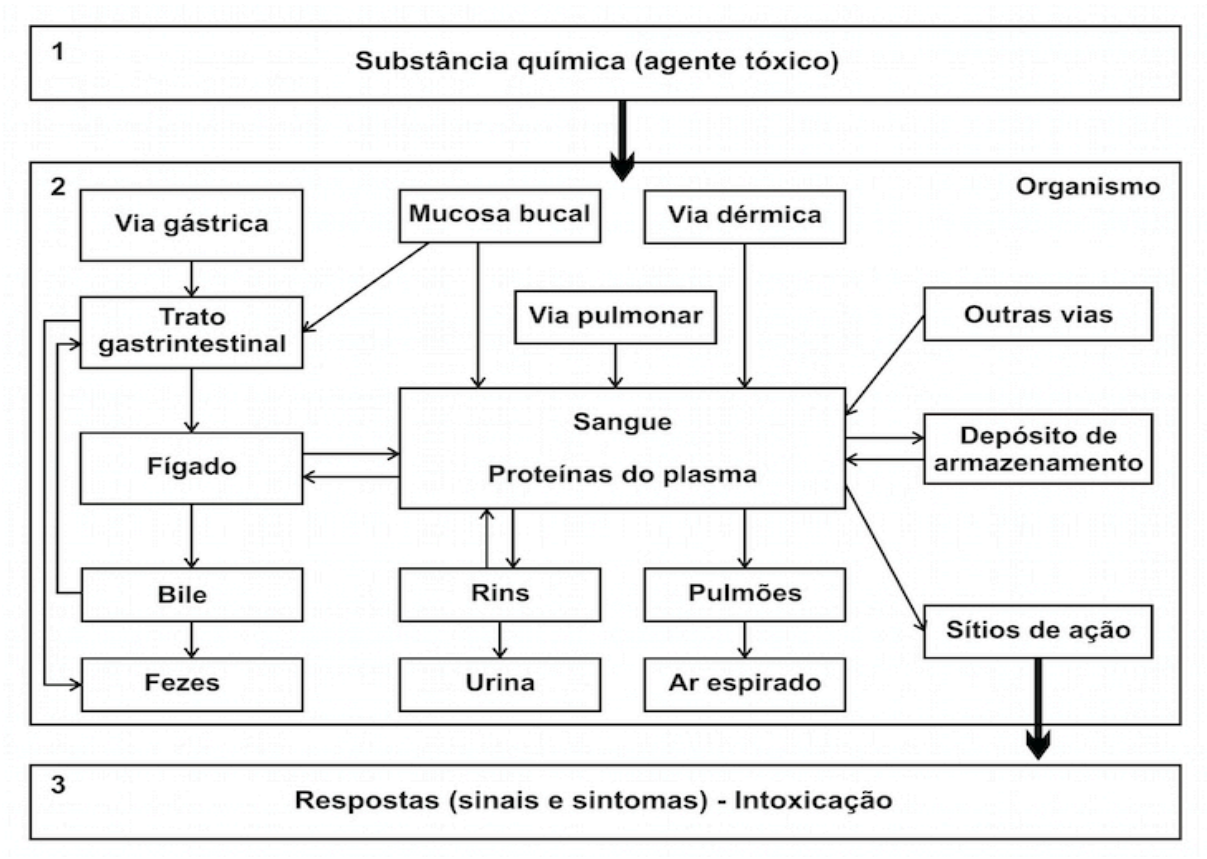
Classe	Toxicidade	DL_{50} (mg/kg)
I	Extremamente tóxico	$\leq$ 5
II	Altamente tóxico	Entre 5 e 50
III	Mediamente tóxico	Entre 50 e 500
IV	Pouco tóxico	Entre 500 e 5.000

Fonte: Peres; Moreira, 2003.

Quanto ao modo de intoxicação, os agrotóxicos podem interagir com o organismo animal através da mucosa bucal, por via oral ou respiratória, pelo contato com a pele ou

exoesqueleto e outras vias interorgânicas como a pinocitose, a membrana placentária ou a membrana encefálica (Figura 2) (TOCCHETTO, 2014).

Figura 2 – Mecanismo de interação entre o agente tóxico e o organismo animal exposto



Fonte: Tocchetto, 2014.

Segundo Spadotto *et al*. (2004), o Brasil consumia anualmente mais de 300 mil toneladas de agrotóxicos, dos quais 130 mil toneladas eram de princípios ativos agregados aos produtos comercializados. Constataram que de 1965 até 2004 o consumo nacional de agrotóxicos cresceu em 700% sendo que a área agrícola cresceu somente 78%. Em 2014 esse consumo agrícola ultrapassou um milhão de toneladas e em média 5,2 quilos *per capita* de agrotóxicos foram usados (INCA, 2015; RIGOTTO *et al*., 2014).

3.4 OS INSETICIDAS SISTÊMICOS

Os inseticidas sistêmicos são os agrotóxicos mais usados atualmente para o controle de pragas. Eles dominam aproximadamente um terço (1/3) do mercado mundial de inseticidas em termos monetários (dados de 2010) (SIMON-DELSO *et al*., 2015) e 30% do consumo mundial de agrotóxicos (JESCHKE *et al*., 2011).

Os inseticidas sistêmicos são aplicados de várias maneiras, como revestimento de sementes, imersões, pulverizações foliares, aplicações nos sulcos do solo antes do plantio e injeções nos caules e troncos. São usados para o controle de pragas em inúmeras culturas agrícolas, no estoque de grãos, na horticultura, nos reflorestamentos, na silvicultura e na conservação da madeira. Também são amplamente usados para controlar doenças causadas por insetos e vetores em animais domésticos, na aquicultura, no controle de pragas e insetos urbanos (SIMON-DELSO *et al*., 2015).

Esses compostos altamente tóxicos, também potencializam seus efeitos quando misturados a outros agrotóxicos, fenômeno que não tem sido considerado pelos usuários, apesar de que o modo de ação, o sinergismo e os mecanismos tóxicos de ação estejam sendo cientificamente documentados (DANIELE *et al*., 2018; GEWEHR, 2012; IWASA *et al*., 2004; KILJANEK *et al*., 2017; SATCHIVI; SCHMITZER, 2011).

Por serem persistentes no solo, solúveis em água, de fácil manejo, com menor custo/benefício e altamente eficientes, os inseticidas sistêmicos ganharam mercado e notoriedade no agronegócio e em milhares de experimentos e artigos científicos. Yamamoto *et al*. (2000) concluíram que:

> Os inseticidas sistêmicos aplicados via tronco (com pincel, abaixo dos ramos primários) podem ser utilizados para controle de pragas, principalmente insetos sugadores, sendo uma opção mais seletiva aos inimigos naturais, pelo modo de aplicação (seletividade ecológica) e de efeito residual mais prolongado quando comparada à aplicação de copa, sendo portanto adequado ao manejo integrado de pragas dos citros (YAMAMOTO *et al*., 2000).

Sanches *et al*. (2009) concluíram que "os resultados positivos na utilização de inseticidas sistêmicos no controle de insetos em mudas cítricas alcançaram eficiência entre 95 e 100%". Os estudos comprovam a altíssima eficiência dos inseticidas sistêmicos para a melhoria da produtividade agrícola, mas a seletividade dos organismos a serem combatidos os tornam questionáveis, pois sua ação é devastadora também para os organismos não alvos e para o meio ambiente. Os efeitos negativos do uso dos inseticidas sistêmicos sobre os biomas e seus organismos: populações, comunidades e ecossistemas, ainda são pouco conhecidos (BERNHARDT *et al*., 2017; CHANGNON *et al*., 2015; KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013).

A demanda mundial cada vez maior pelo uso em caráter preventivo desses inseticidas sistêmicos, extremamente eficientes contra os insetos (DOUGLAS; TOOKER, 2015), tem preocupado os cientistas quanto aos seus efeitos sobre os biomas, pois somente 5% dos seus ingredientes ativos são aproveitados pelas plantas e o restante é disperso no meio ambiente (WOOD; GOULSON, 2017). O uso indiscriminado resultou na contaminação

generalizada dos solos agriculturáveis, recursos hídricos, manguezais, vegetação não alvo, estuários e sistemas fluvio-deltaicos, levando a biota exposta de modo letal e subletal a esses elementos ao declínio e desaparecimento progressivo (CHAGNON *et al*., 2015; GOULSON, 2013; WHITEHORN *et al*., 2012).

Embora as autorizações de uso desses inseticidas sistêmicos para o mercado consumidor se faça passar por avaliações de riscos ecológicos de rotina, os órgãos regulamentadores não são capazes de avaliar os riscos nos seus aspectos micro e macro ecológicos, do uso intensivo, periódico e simultâneo de agrotóxicos com inúmeras formulações e com múltiplos mecanismos de ação (BERNHARDT *et al.,* 2017; FURLAN; KREUTZWEISER, 2015). Além disso, numa avaliação de risco ecológico não são consideradas as várias interações com outros fatores de *stress* ambiental (BERNHARDT *et al*, 2017; VAN DER SLUIJS *et al*., 2015). Uma vez concedida a autorização de comercialização do produto, esta coloca limites para dose e frequência permitidas das aplicações, mas não coloca limites no total de utilizações dos ingredientes ativos, levando o ecossistema ao seu limite de irreversibilidade (SIMON-DELSO *et al*., 2015). Além disso, não há, na maioria dos casos, avaliações de exposições sucessivas típicas em bacias hidrográficas, resultando em superexposições ao longo do tempo (BONMATIN *et al*., 2003, 2007; LIESS *et al*., 2013).

Sánchez-Bayo e Tennekes (2017) defendem mudanças drásticas nos protocolos de avaliações dos riscos ecológicos dos agrotóxicos, caso contrário vivenciaremos uma substancial extinção de espécies nos próximos anos. Furlan *et al*. (2018) discutem a eficácia dos neonicotinóides e fipronil no uso agrícola, propõe alternativas e fazem um resumo das regulamentações para o uso deste inseticidas sistêmicos na Europa e em outros continentes. Krupke *et al*. (2017) não encontraram benefícios na utilização de sementes de milho tratadas com neonicotinóides em grandes plantações do meio oeste norte americano, porém observaram grande risco para as abelhas e outros organismos não-alvos.

Quanto aos mecanismos de ação, os agrotóxicos sistêmicos assim como muitos dos seus metabólitos tóxicos são absorvidos pelas raízes e folhas e transportados para todas as partes da planta, o que torna a planta tóxica para os insetos nocivos às culturas agrícolas que estão sendo tratadas. Os agrotóxicos sistêmicos agem na transmissão neural do sistema nervoso central dos invertebrados. Os neonicotinóides imitam a acetilcolina e se ligam aos receptores de nicotina-acetilcolina (*nAChRs*) agressivamente (JESCHKE; NAUEN, 2008), ao passo que o fipronil bloqueia os receptores *GABA* (*gamma amino butyric acid*) dos canais de cloro (GUNASEKARA *et al*., 2007). Todas as duas classes de inseticidas sistêmicos (neonicotinóides e fipronil) são letais aos organismos alvo, aos organismos não alvo e

desencadeiam uma série de efeitos adversos subletais em invertebrados e vertebrados (GIBBONS *et al*., 2014; SIMON-DELSO *et al*., 2015).

Em decorrência do uso indiscriminado desses agrotóxicos, as contaminações são encontradas em todos os ambientes: solo (GOULSON, 2013; TAPPARO *et al*., 2012), água (DELORENZO *et al*., 2012; HLADIK; KOLPIN, 2015) e ar (KRUPKE *et al*., 2012; MARZARO *et al*., 2011). A contaminação ambiental ocorre de todas as maneiras possíveis, até mesmo pela poeira das sementes a serem plantadas quando elas passaram pelo processo de revestimento (*seed dressing* ou *coating*) (DOUGLAS; TOOKER, 2015; GIROLAMI *et al*., 2009, 2012), pela acumulação ambiental após sucessivas aplicações em áreas agriculturáveis (GOULSON, 2013; KREUTZWEISER *et al*., 2013), pelo lixiviamento para as águas de superfície e lençóis freáticos (CHRÉTIEN *et al*. 2017; HUSETH; GROVES, 2014; WETTSTEIN *et al*. 2016), pela captura dos agrotóxicos por plantas não alvo, através de suas raízes e conduzidos através do sistema xilêmico da planta até o pólen, néctar e fluidos de gutação, pela deriva de pulverização aérea, pelo pólen e néctar contaminados a partir de plantas tratadas e através dos ventos ou animais portadores (VAN DER SLUIJS *et al*., 2015).

A persistência destas substâncias no solo, cursos de água e plantas não alvo é variável, mas pode ser longa. A meia vida (DT_{50}) de alguns agrotóxicos sistêmicos no solo pode passar de 1.000 dias e em plantas lenhosas podem ultrapassar a um ano (BONMATIN *et al*., 2015). Essa combinação de exposição ao longo do tempo e a solubilidade em água tem causado uma contaminação em larga escala (HLADIK; KOLPIN, 2015).

Rastreamentos dessas contaminações por agrotóxicos sistêmicos e seus metabólitos não foram feitos de forma sistemática e adequada, a fim de identificar as exposições em longo prazo, de baixas concentrações ou as exposições de curto prazo, de elevadas concentrações (HLADIK *et al*., 2014). No entanto, onde as amostras foram rastreadas, elas foram facilmente encontradas por conter misturas de agrotóxicos sistêmicos (neonicotinóides, fipronil e seus metabólitos).

Além disso, em amostras colhidas nas águas de superfície e no lençol freático, foram encontrados valores superiores aos limites estabelecidos em diferentes países da América do Norte e Europa (HLADLIK *et al*., 2015). No geral, há fortes indícios de que os solos, cursos de água e plantas em ambientes rurais e urbanos e áreas de drenagem estejam contaminados com resíduos de inseticidas sistêmicos e seus metabólitos (BONMATIN *et al*., 2015; DAVID *et al*., 2016; GIORIO *et al*., 2017).

Essas concentrações fatais oferecem inúmeras rotas de exposições agudas e crônicas a uma série de organismos não alvos (TENNEKES, 2012). Os polinizadores (com

destaque para as abelhas) estão em contato direto com esses elementos desde a semeadura, através da poeira das sementes revestidas, na coleta do pólen, do néctar, da gutação, da água e das resinas. Pesquisas feitas sobre estocagem de alimento em colônias de abelhas em vários biomas do planeta mostraram que as abelhas são sistematicamente contaminadas pelos inseticidas sistêmicos e seus metabólitos, com concentrações até 100 ppb, geralmente com interações com outros agrotóxicos, em muitos casos conhecidos por apresentarem sinergismo com os inseticidas sistêmicos.

Existem também as intoxicações de outros organismos não alvos, que habitam os solos e os ambientes aquáticos, os insetos herbívoros consumidores de ervas daninhas ou plantas silvestres, que são pouco estudados, mas que são irremediavelmente expostos a esses agrotóxicos (BONMATIN *et al*., 2015; ČEREVKOVÁ *et al*., 2017; HUSSAIN *et al*., 2016; MAUTE *et al*., 2017; VAN GESTEL *et al*., 2017).

Invertebrados do solo e da água são pouco estudados. Para esses, a toxicidade residual e persistente é muito elevada e pode-se incluir nesses grupos muitas espécies necessárias para o controle biológico de pragas. Para os anelídeos, como as minhocas, van der Sluijs *et al*. (2015) dizem que a CL_{50} (concentração letal) necessária para matar pelo menos 50% dos organismos tratados está na faixa de 10-100 ppb. Já Pisa *et al*. (2015) em 13 estudos avaliados reportaram um CL_{50} entre 1,5 à 25,5 ppm para os neonicotinóides. Para o fipronil, dois estudos registraram letalidade em concentrações 100 vezes menor (MOSTERT *et al*., 2002; ALVES *et al*., 2013). No meio ambiente os inseticidas sistêmicos apresentam efeitos negativos no desenvolvimento de um grande número de invertebrados não alvos de ambientes terrestres, aquáticos, manguezais, ambientes marinhos e de substratos de qualquer natureza (PISA *et al*., 2015; GIORIO *et al*., 2017).

Embora os inseticidas sistêmicos possuam características únicas, as metodologias para testá-los não foram mudadas, conservando-se padrões ortodoxos e em consequência surgiram muitos resultados inconclusivos quanto ao seu uso seguro para a agricultura e o meio ambiente (MAXIM; VAN DER SLUIJS, 2013). Metodologias mais potentes deverão ser criadas para satisfazer os perfis toxicológicos desses agroquímicos, que incluam todas as variáveis intrínsecas e extrínsecas ao processo toxicológico em questão (PARADIS *et al*., 2014; WIEST *et al*., 2011). Testes desses compostos têm sido feitos regularmente em vários países (EPPO, 2010a, b; JESCHKE *et al*., 2011), entretanto, os riscos associados à presença desses agrotóxicos sistêmicos a nível global mostram evidências de malefícios à biota exposta (CHAGNON *et al*., 2015). As dúvidas mais marcantes quanto aos seus efeitos são:

- Na maioria dos países há pouca ou nenhuma informação pública sobre qualidades e quantidades de inseticidas sistêmicos, nem onde são usados. Dados confiáveis, sobre quantidades utilizadas, são necessários para uma avaliação realista dos estudos de impactos ambientais (KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013).
- O rastreamento dos resíduos no solo, água e ar são extremamente limitados. Apesar de se conhecer a gravidade do problema, apenas dados muito fragmentados existem sobre o assunto (HLADIK *et al*., 2015; MORRISSEY *et al*., 2015; NUYTTENS *et al*., 2013; SÁNCHEZ-BAYO, 2014).
- Não se conhece o destino final de todo esse resíduo de agrotóxicos sistêmicos e seus metabólitos, portanto é impossível avaliar o custo ambiental dessa exposição sobre todos os organismos afetados (SPADOTTO *et al*., 2004).
- A toxicidade a longo prazo para a maioria dos organismos afetados ainda é pouco pesquisada (MASON *et al*., 2014). Pesquisas de toxicidade só foram feitas com poucas espécies de abelhas a nível mundial e poucos estudos sobre outros polinizadores, como as moscas das frutas, as borboletas e as mariposas (BRITTAIN *et al*., 2010; CHARPENTIER *et al*., 2014; MULÈ *et al*., 2017; PECENKA; LUNDGREN, 2015). Igualmente, os organismos do solo, como os anelídeos e os nematoides têm sido pouco estudados (DE LIMA E SILVA *et al*., 2017; VAN GESTEL *et al*., 2017). Dentre os vertebrados como os mamíferos, os granívoros e as aves, só foram estudadas algumas espécies de poucos países de maior desenvolvimento econômico (GIBBONS *et al*., 2014; TENNEKES, 2012).
- O acúmulo de toxicidade devido às exposições lentas e persistentes do meio ambiente aos inseticidas sistêmicos e seus metabólitos ainda não foram suficientemente estudadas e medidas em artigos publicados sobre avaliação dos riscos químicos (BONMATIN *et al*., 2015; LYDY *et al*., 2004).
- Os benefícios agrícolas de curto e longo prazo oferecidos pelos inseticidas sistêmicos não são amplamente divulgados. Dados de produção e custo-benefício não se tornam públicos, do mesmo modo que os dados de consumo (MAINI *et al*., 2010; STEVENS; JENKINS, 2014).

Considerando-se a falta de conhecimento conclusivo sobre os efeitos e consequências dos inseticidas sistêmicos, torna-se difícil a perfeita avaliação e dimensionamento dos riscos associados aos biomas afetados (BERNHARDT *et al*., 2017). Os seus benefícios também nunca foram claramente demonstrados em sistemas de cultivo, onde

esses produtos têm sido periodicamente usados. Os inseticidas sistêmicos, neonicotinóides e fipronil, representam uma nova fase para a agricultura, evidenciando falhas nos processos de fiscalização e aprovação dos agrotóxicos correntemente usados, que não contemplam os riscos de uso de inseticidas de largo espectro, em grande escala, para manutenção dos ecossistemas e serviços (CASTILLO-DIAZ *et al*., 2017; DOUGLAS; TOOKER, 2015; PISA *et al*., 2017; SCHAAFSMA *et al*., 2016).

Estudos recentes consideram que as aplicações de inseticidas sistêmicos não oferecem ganho real e até mesmo em certas culturas apresentam prejuízos econômicos (STEVENS; JENKINS, 2014). Espera-se que mais e melhores estudos sejam feitos sobre a viabilidade econômica dos inseticidas sistêmicos a partir do embargo feito pela União Europeia durante dois anos (FURLAN; KREUTZWEISER, 2015).

3.4.1 Os neonicotinóides e o fipronil

A calda de água com folhas de tabaco, *Nicotiana tabacum* (Figura 3a), como inseticida, foi reportada na Europa pela primeira vez em 1690 (TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Na América do Norte, Peter W. Yates fez uso pela primeira vez na cidade de Albany, estado de Nova York em 1814 (BEINHART, 1950). A nicotina foi isolada pela primeira vez por Posselt e Reimann, (1828). No seu estado puro é incolor, líquida, quase sem odor, de baixa volatilidade e extremamente tóxica. A sua estrutura química foi determinada por Pinner (1893) (UJVÁRY, 1999) (Figura 3b).

Figura 3 – Plantação de tabaco e estrutura molecular da nicotina

Fonte: SOFTPEDIA, 2015

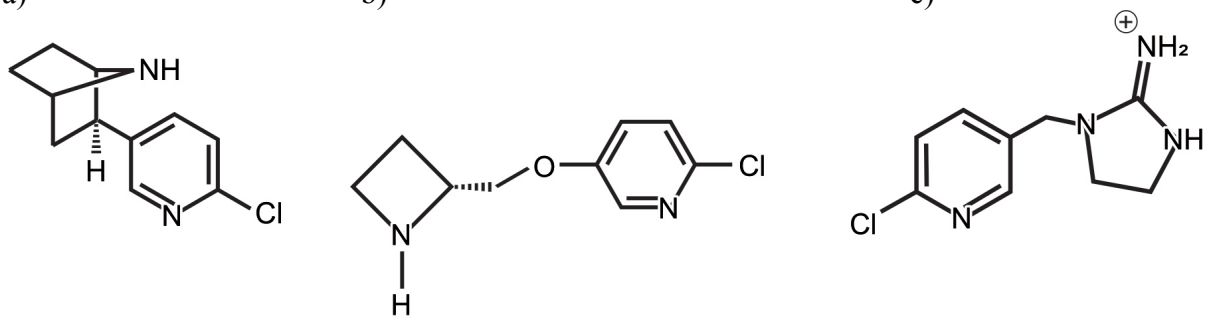
Fonte: INFOESCOLA, 2010.

Com a descoberta de outro componente natural do mesmo grupo químico, a epibatidina, na pele de um anuro equatoriano (*Epipedobates tricolor*) (BADIO; DALY, 1994; SPANDE *et al*., 1992), foram sintetizados mais dois outros princípios ativos, o ABT-594 (Tebaniclina ou Ebaniclina) (DECKER; MEYER, 1999; LLOYD; WILLIAMS, 2000) e o

desnitroimidaclopride (TOMIZAWA *et al*., 2000) formando a classe dos nicotinóides. Mesmo sendo os nicotinóides estruturalmente similares aos neonicotinóides, eles diferem notavelmente quanto aos seus efeitos. Com exceção da nicotina, que é extremamente tóxica, a epibatidina (Figura 4a) e o ABT-594 (Figura 4b) são dois potentes analgésicos. O nicotinóide desnitroimidaclopride (Figura 4c) é um metabólito do neonicotinóide imidaclopride (TOMIZAWA *et al*., 2000) e também age como analgésico.

Figura 4 – Epibatidina, ABT-594 e desnitroimidaclopride

a) b) c)



Fonte: a) WIKIMEDIA, 2015a; b) SCIENCEPOLE, 2015; c) WIKIMEDIA, 2015b.

Os neonicotinóides tiveram seu primeiro representante comercial, o imidaclopride, sintetizado a partir da nitiazina (Figura 5a), molécula fotoinstável que foi modificada por Shinzo Kagabu em 1985 (TOMIZAWA; CASIDA, 2011) e continuam sendo o único grupo químico de inseticidas desenvolvidos nos últimos quarenta anos com potencial mercadológico (TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Os neonicotinóides atuais, o ano de registro das patentes e seus fabricantes são:

- Cíclicos (hidrocarbonetos com átomos de carbono estruturados em cadeia fechada):
  1) imidaclopride, (1985, Bayer CropScience)
  2) tiaclopride, (1985, Bayer CropScience)
  3) tiametoxam, (1992, Syngenta)
- Acíclicos (hidrocarbonetos com átomos de carbono estruturados em cadeia aberta):
  4) nitenpiram, (1988, Sumitomo Takeda)
  5) acetamipride (1989, Nippon Soda)
  6) clotianidina, (1989, Sumitomo Takeda/ Bayer CropScience)
  7) dinotefuran, (1994, Mitsui Chemicals) (JESCHKE, 2007, 2011).

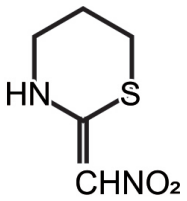
Os neonicotinóides, também podem ser classificados quanto aos seus grupos químicos como:

- Nitrometilenos: nitenpiram (Figura 5b)

- N-cianoamidinas: acetamipride e tiaclopride (Figura 5c) (JESCHKE *et al*., 2011) e
- N-nitroguanidinas: imidaclopride, tiametoxam, clotianidina e dinotefuran (Figura 5d)

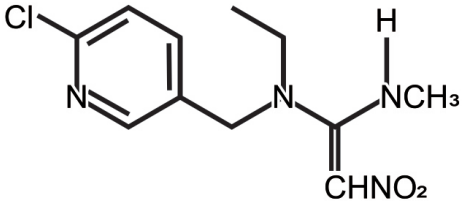
Figura 5 – Estruturas moleculares dos neonicotinóides comerciais

a)



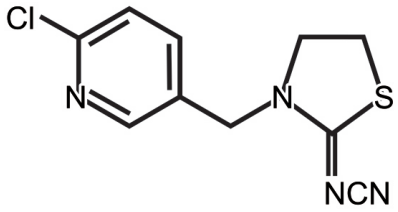
NITIAZINA

b) Nitrometilenos

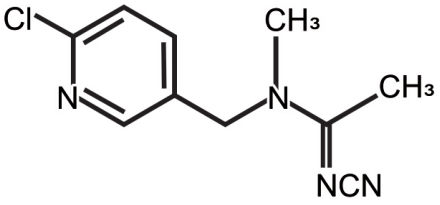


NITENPIRAM

c) N-nitrocianoamidinas

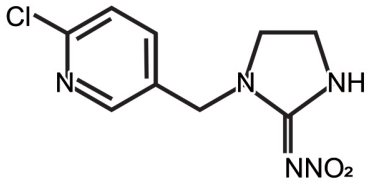


TIACLOPRIDE

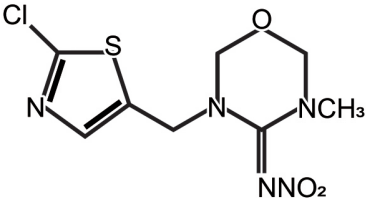


ACETAMIPRIDE

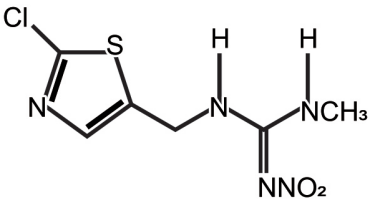
d) N-nitroguanidinas



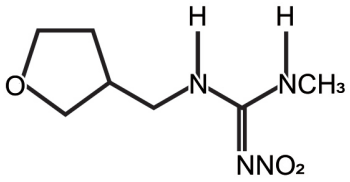
IMIDACLOPRIDE



TIAMETOXAM



CLOTIANIDINA



DINOTEFURAN

Fonte: TOMIZAWA; CASIDA, 2005.

Novos neonicotinóides estão sendo testados ou estão aguardando os registros das patentes para serem lançados no mercado mundial. São eles: o *sulfoxaflor* (2013, Dow Chemical), já comercializado na China; o *imidaclothiz* (patente pendente, ABI Chemicals); o *paichongding* (patente pendente, Kwin Company), o *cycloxaprid* (patente pendente, Rudong Zhongyi Chemical), *guadipyr* (2008, Hefei Xingyu Chemical Co. Ltd.) e o *flupyradifurone* (2012, Bayer CropScience) (VAN DER SLUIJS *et al*., 2015).

Os neonicotinóides são substâncias que agem na sinapse como agonistas nas aberturas dos canais de cátions dos receptores de nicotina-acetilcolina (*nAChRs*) dos invertebrados (CASIDA; DURKIN, 2013). As diferenças entre as estruturas e as propriedades dos receptores (*nAChRs*) dos insetos e dos mamíferos explicam a alta seletividade dos neonicotinóides aos artrópodes e a relativa baixa toxicidade aos vertebrados (NAUEN *et al*., 1999; TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Como resultado a ação agonista dos neonicotinóides induz uma excitação contínua da membrana neuronal, produzindo descargas elétricas que levam à paralisia e exaustão celular dos insetos.

Por suas características seletivas de alta toxicidade aos insetos em mínimas quantidades, com DL_{50} para as abelhas na ordem de 5 ng/abelha e uma CL_{50} entre 5-10 ppb (SUCHAIL *et al*., 2000), os neonicotinóides são os inseticidas mais comercializados no mercado mundial para controle de pragas. São altamente solúveis em água e absorvidos pelas plantas através dos seus sistemas floêmico e xilêmico, permanecendo de modo sistêmico em todos os tecidos e órgãos, eliminando assim todos os insetos maléficos ou benéficos que entram em contato com a planta tratada ou que integram a biota contaminada (GOULSON, 2013). Concentrações entre 5 e 10 ppb (partes por bilhão) na planta são suficientes para eliminar os insetos parasitas ou visitantes (BYRNE; TOSCANO, 2006; CASTLE *et al*., 2005).

O mais notável é a alta afinidade com que os inseticidas neonicotinóides agonisticamente se ligam aos receptores de nicotina-acetilcolina (*nAChRs*) de tal forma que mesmo as exposições de baixas doses (ppb), ao longo de períodos de tempo prolongados, podem resultar em efeitos devastadores (PISA *et al*., 2015; TENNEKES, 2012).

Todos os neonicotinóides se ligam aos mesmos *nAChRs* no sistema nervoso, sendo assim a toxicidade cumulativa é esperada. Atualmente, não há estudos abordando os efeitos cumulativos ou efeitos sinergéticos de exposições simultâneas a vários compostos da família dos neonicotinóides sejam eles os já conhecidos, como acetamipride, clotianidina, dinotefuran, imidaclopride, nitenpiram, tiaclopride, tiametoxam ou os novíssimos

cycloxapride, imidaclotiz, paichongding, sulfoxaflor, guadipir e flupiradifurona (PISA *et al*., 2017; SIMON-DELSO *et al*., 2015; VAN DER SLUIJS *et al*., 2015).

As avaliações de risco são feitas para cada substância química separadamente, enquanto muitas espécies não alvos, tais como polinizadores, ficam sujeitos a múltiplas exposições de neonicotinóides, bem como outros pesticidas e seus metabólitos. Deste modo, os riscos têm sido continuamente subestimados (GILL *et al*., 2012). A análise da ocorrência múltipla de agrotóxicos no meio ambiente é um problema gigantesco e a criação de uma metodologia que agregasse todas as variáveis de múltiplas exposições aos neonicotinóides representaria uma contribuição inestimável para a ciência (DAVID *et al*., 2016; GIORIO *et al*., 2017; VAN DER SLUIJS *et al*., 2015).

Em cenários de exposição em campos semeados com sementes revestidas (*seed dressing*), o imidaclopride e o clotianidina representam um risco enorme para as aves e a ingestão de algumas poucas sementes revestidas pode causar mortalidade ou disfunção reprodutiva das espécies mais sensíveis (MILLOT *et al*., 2017). Todos esses efeitos ocorrem frequentemente em baixas concentrações (ppb), bem abaixo daqueles associados à mortalidade direta (ppm) (GIBBONS *et al*., 2014).

Com exceção dos casos mais extremos, as concentrações de neonicotinóides a que peixes e anfíbios estão expostos parecem ser substancialmente abaixo dos limiares de provocarem a morte, desconhecendo-se seus efeitos até então (HLADIK *et al*., 2014; HLADIK *et al*., 2015; HLADIK; KOLPIN, 2015).

Apesar da falta de pesquisas e a dificuldade em atribuir o nexo de causalidade (vínculo entre o agente e o resultado), os efeitos indiretos podem ser tão importantes como os efeitos tóxicos diretos sobre vertebrados e possivelmente mais importantes (MAXIM; VAN DER SLUIJS, 2007, 2010). Como os neonicotinóides são muito mais eficazes para matar invertebrados que vertebrados (VOGEL, 2017), os efeitos indiretos são raramente considerados nos processos de avaliação de risco e há uma escassez de dados, apesar do potencial para exercer efeitos notadamente maléficos na população de vertebrados (GOBELI *et al*., 2017; GODINHO *et al*., 2016; ITURBURU *et al*., 2017; KHALIL *et al*., 2017; SÁNCHEZ-BAYO; GOKA, 2014; TENNEKES, 2012).

Interações entre inseticidas sistêmicos e outros fatores de *stress*, como outros agrotóxicos, doenças e *déficit* alimentar, têm sido exploradas em apenas alguns poucos estudos sobre as abelhas e esses estudos têm revelado efeitos sinérgicos importantes. Por exemplo, em abelhas com *Nosema* tratadas com doses subletais de neonicotinóides a susceptibilidade ao patógeno aumenta enormemente (ALAUX *et al*., 2010; AUFAUVRE *et*

al., 2012; DI PRISCO *et al*., 2013; GILL *et al*., 2012; JOHNSON *et al*., 2009; VIDAU *et al*., 2011).

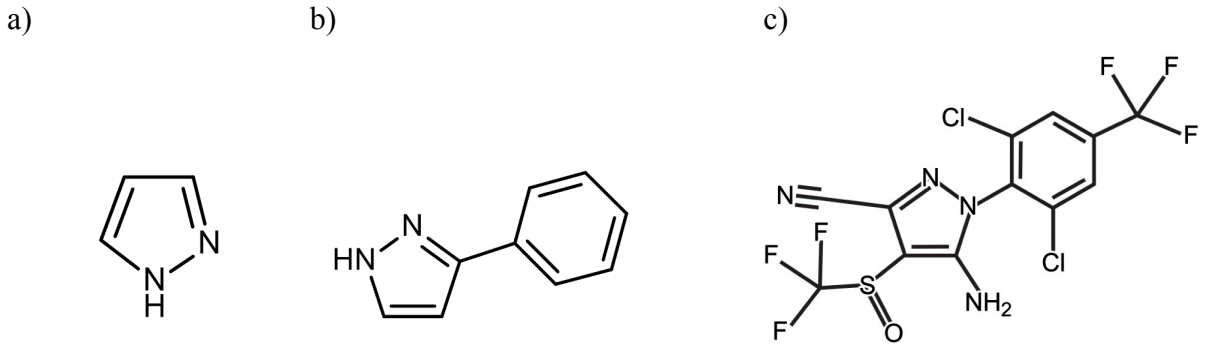
Interações entre inseticidas sistêmicos e outros fatores de *stress*, em outros organismos que não as abelhas, são quase inteiramente desconhecidas (MASON *et al*., 2014). Em situações de campo, os organismos são simultaneamente expostos a vários agrotóxicos, bem como outros fatores de *stress*, por isso se torna difícil compreender as consequências dessas interações (GRIPP *et al*., 2017; WAGNER *et al*., 2017). Assim, se torna necessário criar um novo método de análises de múltiplos resíduos para realizar estudos mais conclusivos nesta área (PARADIS *et al*., 2014; WIEST *et al*., 2011). Análises de resíduos no pólen, mel, abelhas e favos têm revelado a presença de múltiplos agrotóxicos acumulados ao longo do tempo (BONMATIN *et al*., 2015; DANIELE *et al*., 2018; DAVID *et al*., 2016; GIORIO *et al*., 2017; KRUPKE; LONG, 2015), contudo as crias têm sido menos investigadas (LÓPEZ *et al*., 2017; TAVARES *et al*., 2015; WU *et al*., 2017; YANG *et al*., 2012).

O fipronil (Figura 6c), um fenilpirazol (Figura 6b), é um inseticida sistêmico derivado do pirazol (Figura 6a) (GODOY-NETTO *et al*., 2008). Os pirazóis pertencem à família dos 1,2-azóis. Azóis são compostos orgânicos, heterocíclicos aromáticos contendo um átomo de nitrogênio e outro heteroátomo dispostos na posição 1 e 2 de um anel pentagonal.

O fipronil, descoberto pela Rhône-Poulenc (Bayer CropScience) em 1987 (TINGLE *et al*., 2003) e comercializado a partir de 1993 (PPDB, 2016), inicialmente se pretendia que o fipronil fosse mais um herbicida, característica da família fenilpirazol, mas contrariando as expectativas se mostrou um potente inseticida.

A ligação do fipronil com os receptores *GABA* (*Gamma Amino Butyric Acid*), são diferentes nos vertebrados se comparados aos insetos que possuem os receptores neuronais mais estreitos, tornado o uso deste inseticida mais agressivo e fatal aos invertebrados (COLE *et al*., 1993; NARAHASHI *et al*., 2007, 2010). Agindo do mesmo modo que os carbamatos e organofosforados, o fipronil atua sobre os receptores inibidores do sistema nervoso. Ele se liga aos receptores *GABA* (TINGLE *et al*., 2003) e aos receptores de glutamato, específicos dos invertebrados, fechando os canais de cloro (Cl) (BARBARA *et al*., 2005). Fazendo isso, o fipronil bloqueia os receptores inibidores levando a uma excitação do sistema nervoso. Isso leva à hiperexcitação neuronal, devido à acumulação do neurotransmissor (*GABA*) nas junções sinápticas. O mecanismo de ação do fipronil é antagonista, enquanto os neonicotinóides são agonistas. Os receptores de glutamato afetados são específicos dos insetos, razão pela qual o fipronil é mais eficaz em invertebrados do que em vertebrados (NARAHASHI *et al*., 2007).

Figura 6 – Estrutura molecular do pirazol, fenilpirazol e fipronil



Fonte: a), b) MERCK MILLIPORE, 2016; c) KEGLEY *et al*., 2016.

O fipronil como inseticida é usado para prevenir infestações de insetos indesejáveis na produção agrícola, pois oferece alta flexibilidade nos métodos de aplicação, são altamente tóxicos para uma enorme quantidade de espécies de insetos alvos e não alvos e de baixa toxicidade para os vertebrados quando comparados com outras classes de inseticidas (US-EPA, 1996). Seu peso molecular é de 437,15 g/mol e sua solubilidade em água é de 3,78 mg/L evidenciando que o fipronil apresenta baixa mobilidade interorgânica, no solo e na água (TINGLE *et al*., 2003). A Tabela 2 mostra os parâmetros físico-químicos dos neonicotinóides e do fipronil, suas capacidades de lixiviamento e de translocação dentro das plantas.

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos dos neonicotinóides e do fipronil

Inseticida	Massa molar (g/mol)	Solubilidade H_2O/ 20 ºC/ pH 7 (g/L)	Índ.*GUS* Potencial de lixiv.	Fotólise H_2O/ pH7 DT_{50}(dias)	Sedimento H_2O DT_{50}(dias)	Coef. part. octan./H_2O (log P_{ow})	Const. dissoc. (pK_a)
Acetamipride	222,67	2,95	0,94	34,00	-	0,80	0,7
Clotianidina	249,70	0,34	4,91	0,10	56,4	0,91	11,1
Dinotefuran	202,21	39,86	4,95	0,20	-	-0,55	12,6
Imidaclopride	255,70	0,61	3,76	0,20	129,0	0,57	s/dissoc.
Nitenpiram	270,72	590,0	2,01	-	-	-0,66	3,1
Tiaclopride	252,72	0,184	1,44	Estável	28,0	1,26	s/dissoc.
Tiametoxam	291,71	4,1	3,82	2,70	40,0	-0,13	s/dissoc.
Fipronil	437,15	0,00378	2,45	0,33	68,0	3,75	s/dissoc.

Fonte: PPDB, 2016.

Esses mecanismos de ação agregados à praticidade de aplicações em sementes, raízes, folhas, troncos e solos, mais o fato de que alguns insetos já vinham apresentando resistência aos inseticidas organofosforados, carbamatos e piretróides (MARRS, 1993) levaram os neonicotinóides e o fipronil ao topo do mercado mundial de inseticidas.

3.5 A CONTAMINAÇÃO LETAL

Desde o surgimento dos neonicotinóides e do fipronil, pesquisas tem se desenvolvido no sentido de analisar seus efeitos sobre as abelhas (*Apis mellifera*). Isto porque as abelhas são os melhores e mais eficientes polinizadores naturais e o seu declínio representa uma catástrofe para a produção agrícola mundial (BREEZE *et al*., 2011; KLEIN *et al*., 2007). Nos últimos anos a morte em massa e o desaparecimento de colônias de abelhas têm sido contabilizados como perdas sazonais, geralmente registradas no hemisfério norte e as indicações são de que as abelhas vêm sofrendo perdas excessivas nessa parte do mundo (DAINAT, *et al*., 2012; OLDROYD, 2007; STOKSTAD, 2007; VAN DER ZEE, *et al*., 2012; VANENGELSDORP; MEIXNER, 2010).

Todos os estudos efetuados até agora têm demonstrado que não somente uma causa, mas sim um conjunto de causas tem levado ao declínio das abelhas e de outros polinizadores, incluindo-se os agrotóxicos, a perda de habitat, a degradação do meio ambiente, os patógenos e os parasitas (DECOURTYE *et al*., 2010; KLUSER *et al*., 2010; MAINI *et al*., 2010; NEUMANN; CARRECK, 2010). Além de considerar os fatores bióticos e abióticos, o declínio das populações das abelhas também é influenciado pelos valores dos produtos e serviços desses insetos sociais, levando-se em consideração os interesses antrópicos (AIZEN; HARDER, 2009; MAINI *et al*., 2010).

3.5.1 Intoxicação aguda e crônica

Quando aplicados como inseticidas foliares, seja por pulverização aérea ou via solo representam um enorme risco de exposição direta às abelhas. Outra grande parte do seu uso como revestimento de sementes ou aplicação nos pontos de semeadura faz com que a poeira causada por esse processo seja letal, com intoxicação aguda para as abelhas (PISA *et al*., 2015; SIMON-DELSO *et al*., 2015).

A Tabela 3 mostra as características dos inseticidas sistêmicos comparados ao DDT e suas toxicidades com respeito a intoxicação nas abelhas, objeto deste estudo. Nota-se que os neonicotinóides e o fipronil apresentam elevada toxicidade aguda para as abelhas.

Tabela 3 – Toxicidade (em abelhas) dos neonicotinóides e do fipronil comparados ao DDT

Inseticida	Dose típica (g/ha)	DL_{50} (ng/abelha)	Razão DL_{50} (DDT/sist.)
DDT	200,0 - 600,0	27.000,0	-
Acetamipride	30,0 - 150,0	7.100,0	3,8
Clotianidina	50,0	2,5	10.800,0
Dinotefuran	-	23,0	1.173,9
Imidaclopride	75,0	3,7	7.297,0
Nitenpiram	-	138,0	195,7
Tiaclopride	62,5	12.600,0	2,1
Tiametoxam	69,0	5,0	5.400,0
Fipronil	50,0	4,2	6.475,0

Fonte: BONMATIN, 2009.

Estudos sobre doses letais orais para as abelhas têm sido desenvolvidos desde muitos anos para esses agrotóxicos (IWASA *et al*., 2004; SUCHAIL *et al*., 2001). O nível de neonicotinóides e fipronil que as abelhas são expostas no néctar e no pólen das plantas tratadas variam muito conforme o método de aplicação. A poeira da semeadura, a pulverização aérea e o encharcamento do solo resultam em concentrações mais elevadas do agrotóxico nas plantas.

Considerando as condições ambientais naturais, a DL_{50} para as abelhas com respeito aos inseticidas sistêmicos, varia de acordo com as características do bioma. Tomando como exemplo o imidaclopride, inseticida mais usado na categoria dos neonicotinóides, sua DL_{50} mostrou valores entre 3,7 e 490 ng/abelha (DEFRA, 2007, 2009; NAUEN *et al*., 2001; SCHMUCK *et al*., 2001; SUCHAIL *et al*., 2001). Acredita-se que essa faixa de variação tão grande por abelha seja devido às variações entre a toxicidade de contato e a toxicidade oral desses componentes, sabendo-se que as doses letais de contato são maiores que as doses letais orais. Pode-se dizer então que as condições de testes em laboratório não refletem as observações de campo, com muitos contatos florais, o que leva a uma grande diferença dos valores de contaminação letal medidos (PISA *et al*., 2015).

Outras fontes de variações podem ser atribuídas às diferenças nas condições ambientais durante os testes, bem como quaisquer diferenças nas condições das próprias abelhas testadas. Por exemplo, os dados demonstraram que os valores de DL_{50} medidos para as abelhas variam com a temperatura, a idade das abelhas (MEDRZYCKI *et al*., 2011), as subespécies de abelhas testadas (SUCHAIL *et al*., 2000), o padrão de contaminação e a exposição prévia aos agrotóxicos (LAURINO *et al*., 2011). Devido à enorme variabilidade dos dados de toxicidade em abelhas (IWASA *et al*., 2004), Halm *et al*. (2006) confirmam a

necessidade de uma padronização melhor de avaliação de risco das várias categorias de abelhas. Os autores propõem o uso de uma relação entre concentração ambiental prevista/concentração sem efeito previsto (*PEC/PNEC*). DL_{50} só deve ser usado para comparar os níveis de toxicidade entre os agrotóxicos, em vez de tirar conclusões sobre o risco de mortalidade atribuído às abelhas através da exposição ambiental aos agrotóxicos (BLACQUIÈRE *et al*., 2012; HALM *et al*., 2006).

Em estudos de exposição subcrônica oral ao imidaclopride e seis dos seus metabólitos, registrou-se uma elevada toxicidade em concentrações de 0,1, 1 e 10 ppb (ou ng/g), sendo que os metabólitos olefina-imidaclopride e 5-OH-imidaclopride se mostraram tóxicos com efeitos de exposição aguda. A principal característica de toxicidade subcrônica é a ausência de uma relação dose-efeito clara, que possa explicar um efeito máximo de uma menor concentração, devido à existência de vários alvos moleculares, como tem sido demonstrado para as abelhas (BARBARA *et al*., 2008; BODEREAU-DUBOIS *et al*., 2012; DÉGLISE *et al*., 2002; DUPUIS *et al*., 2011; GAUTHIER, 2010; THANY *et al*., 2003; THANY; GAUTHIER, 2005). A falta de correlações claras entre dose e efeito também foi verificada em outros estudos, em concentrações mais elevadas (SCHMUCK, 2004).

A existência de correlações não monotônicas entre tratamento e resposta confirmam a hipótese de que alguns produtos químicos, incluindo os neonicotinóides, têm efeitos inesperados e potentes mesmo em doses muito baixas. Esses padrões não lineares e muitas vezes de respostas não intuitivas são devidos à complexa interação de ligação do receptor e dos efeitos de reprogramação dos genes de tais organismos que podem gerar relações de tratamento e resposta inesperados, que ainda precisam ser mapeados (CHARPENTIER *et al*., 2014; FAGIN, 2012). Isso constitui um desafio para avaliação de risco com base no modelo clássico *log-probit* (modelo estatístico de resposta binária; matematicamente é o inverso da função distribuição cumulativa de uma distribuição normal padrão, N(0,1); *probit* = ***prob****ability* + *un****it***).

Segundo conclusão de van der Sluijs *et al*. (2013), não existem protocolos padronizados para medir efeitos letais crônicos. As avaliações de riscos dos agrotóxicos tradicionais são geralmente expressas de três maneiras: DL_{50} (dose letal), no qual pelo menos 50% das abelhas expostas morrem (geralmente dentro de um intervalo de tempo de 10 dias); *NOEC* (*non observed effect concentration*), é a concentração mais elevada de um agrotóxico sem que possa produzir efeito observado; *LOEC* (*lowest observed effect concentration*) é a concentração mais baixa de um agrotóxico para que possa produzir um efeito observado.

Para o imidaclopride, incluindo os seus metabólitos neurotóxicos, a toxicidade letal pode aumentar em até 100.000 vezes em comparação com a sua toxicidade aguda, quando a exposição for prolongada (SUCHAIL *et al*., 2001). Esses resultados foram contestados por Maxim e van der Sluijs (2007; 2013), no entanto, os dois estudos concordaram que o tempo de exposição amplifica a toxicidade do imidaclopride, o que confirma que o tempo padrão de 10 dias para teste de toxicidade crônica das abelhas é muito curto para os neonicotinóides e o fipronil, dados as suas persistências no meio ambiente e para uma provável exposição crônica das abelhas em condições de campo.

Em outro estudo, as abelhas alimentadas com 10% da CL_{50} (concentração letal) de tiametoxam apresentaram uma redução de 41,2% no tempo de vida (OLIVEIRA *et al*., 2013). Estudos têm mostrado que a toxicidade crônica dos neonicotinóides pode mais adequadamente ser expressa por hora de mortalidade de 50% das amostras, em vez de DL_{50} para 10 dias (MASON *et al*., 2014; MAUS; NAUEN, 2011; RONDEAU *et al*., 2014; SÁNCHEZ-BAYO, 2009; TENNEKES, 2010, 2011; TENNEKES; SÁNCHEZ-BAYO, 2011, 2013).

Existe uma relação linear entre o logaritmo da dose diária e o logaritmo do tempo para 50% de mortalidade (RONDEAU *et al*., 2014; SUCHAIL *et al*., 2001; TENNEKES; SÁNCHEZ-BAYO, 2011) (Tabela 4). Quanto menor for a concentração durante a exposição, maior será o período de latência para obter-se um efeito letal e menor será a dose letal (TENNEKES, 2010; 2011; 2012; TENNEKES; SÁNCHEZ-BAYO, 2011; 2013). A relação dose-efeito é demonstrada pela equação de Druckrey-Küpfmüller (1949), como segue:

$$lnT_{50}\ (horas) = 5{,}11 - 0{,}22.lnC\ (\mu g/L).$$

Tabela 4 – Efeito da letalidade do imidaclopride nas abelhas melíferas

Concentração C (µg/L)	Período de latência T_{50} (horas)	Dose letal DL_{50} (µg/L x horas)
57,0	48	2.736
37,0	72	2.664
10,0	173	1.730
1,0	162	162
0,1	240	24

Fonte: TENNEKES, 2012.

Sánchez-Bayo e Goka (2014), demonstraram que em situações de campo, os resíduos de inseticidas neonicotinóides no pólen representam alto risco para as abelhas. Eles descobriram que o tiametoxam coloca as abelhas em maior risco (3,7 a 29,6% de probabilidade de alcançar a mediana da dose cumulativa letal). Em experimentos com colônias de abelhas, os efeitos crônicos em longo prazo foram encontrados com tempos de 80 a 120 dias para 1.000 ppb de dinotefuran e 400 ppb clotianidina (YAMADA *et al*., 2012). Esses estudos simularam aplicações de dosagens agrícolas que deixaram resíduos no limite superior de concentrações no pólen e néctar no campo. Porém, esses dados são poucos e limitados a apenas algumas culturas, por isso ainda não se pode concluir se tais concentrações são raras ou comuns nas situações de campo (VAN DER SLUIJS *et al*., 2013).

Muitos estudos de laboratório e de campo têm sido feitos para descobrir as doses letais de cada neonicotinóide para as abelhas, mas esses resultados têm se mostrado muitas vezes conflitantes. Por exemplo: em exposição oral e de contato crônica durante 11 dias para 1.000 ng/abelha de acetamipride, 1 ng/abelha de tiametoxam e 0,1 ng/abelha de fipronil, tiveram efeitos limitados sobre as funções motoras, sensoriais e cognitivas e não causaram mortalidade significativa para as abelhas operárias (ALIOUANE *et al*., 2009). Já outros estudos de laboratório, usando imidaclopride, mostraram altas taxas de mortalidade quando as abelhas operárias consumiram pólen contaminado à 40 ppb (DECOURTYE *et al*., 2003; DECOURTYE *et al*., 2005) e xarope de açúcar contaminado à 0,1, 1 e 10 ppb (SUCHAIL *et al*., 2001). Por sua vez esses resultados se mostraram contrários aos estudos de campo realizado por Schmuck *et al*. (2001), que não relataram aumento relevante na mortalidade de operárias quando colônias foram expostas ao néctar de girassol contaminado com imidaclopride a taxas de 2 a 20 ppb. Faucon *et al*. (2005), também não encontraram mortalidade de operárias em estudo de campo com abelhas alimentadas com xarope de açúcar contaminada com imidaclopride.

Uma meta-análise feita por Cresswell (2011), concluiu que a exposição oral ao imidaclopride em concentrações de uso regular, em campo (DL_{50} = 4,5 ng/abelha para um período de 48 horas), não resultou em mortalidade de abelhas operárias, entretanto, um estudo subsequente feito por Yamada *et al*. (2012), alimentando colônias de abelhas com dinotefuran (1-10 ppm) e clotianidina (0,4-4 ppm), demonstraram que as colônias se exterminaram em um período máximo de 104 dias. EFSA (2013a, b, c) revisaram as análises até 2013 para intoxicações orais agudas em abelhas *Apis mellifera* e encontraram DL_{50} de 3,7 ng/abelha para o imidacloprid, 3,8 ng/abelha para a clotianidina e 5 ng/abelha para o tiametoxam. Yasuda *et al*. (2017) determinaram o DL_{50} para a *Apis cerana japonica* e descobriram que

essa espécie é ainda mais sensível aos neonicotinóides e o fipronil que a *Apis mellifera*. Papach *et al*. (2017) confirmaram que o tiametoxam (0,6 ng/abelha) quando aplicado às abelhas na fase larval prejudica o aprendizado e a memória das abelhas na fase adulta. Segundo os autores isso sugere que os efeitos de pós-exposições à nível de colônia exigem mais tempo de observação, seguindo a tendência das novas metodologias (BENUSZAK *et al*., 2017; HESKETH *et al*., 2016; PISA *et al*., 2015).

Todos os estudos de campo para investigar exposições das abelhas aos inseticidas sistêmicos enfrentam grandes dificuldades. Em análises de concentrações muito baixas de agrotóxicos presentes no pólen, néctar, abelhas ou outros organismos, métodos mais adequados que validem os critérios de análises quantitativas têm que ser criados. Pilling *et al*. (2013), em um estudo muito polêmico a respeito de abelhas contaminadas em plantações de milho (*Zea mays*) e colza (*Brassica campestris*) tratadas com tiametoxam, não foram capazes de quantificar as concentrações inferiores a 1 ppb. As concentrações aplicadas foram menores que as usadas nas práticas agrícolas, assim, as colônias tratadas e as colônias de controle, sofreram perdas semelhantes e os pesquisadores não foram capazes de desenvolver análises estatísticas, devido à falta de replicação, levando a conclusões equivocadas de avaliação de risco para as abelhas em exposição ao milho e à colza contaminados (HOPPE *et al*., 2015; SCHICK *et al*., 2017).

Colin *et al*. (2004) concluíram que em termos de atitude individual e comportamento alimentar, as abelhas forrageiras não se comportam da mesma forma em culturas tratadas que em culturas não tratadas. A comparação de tratamento e controle nas áreas estudadas pode ser totalmente enganosa porque as áreas de controle podem estar contaminadas por outros agrotóxicos, inclusive inseticidas. O estudo de Pilling *et al*. (2013), com o tiametoxam é ilustrativo para esse caso, uma vez que não forneceu informações sobre a situação de tratamento anteriores das áreas de controle.

Nos casos de morte massiva de abelhas nas plantações de milho durante a semeadura com sementes revestidas com neonicotinóides, há uma relação causal comprovada. A intoxicação aguda das abelhas forrageiras ocorre por meio da exposição à nuvem de poeira deixada pelas máquinas semeadoras, durante seus voos de forrageamento pelas matas ou campos floridos da redondeza (APENET, 2010; GIROLAMI *et al*., 2012; KRUPKE *et al*., 2012; POCHI *et al*., 2012; TAPPARO *et al*., 2012). Nesses casos, abelhas mortas massivamente têm sido encontradas próximas às plantações com sementes cobertas com neonicotinóides, com níveis de intoxicação elevados, interna e externamente. Essas perdas massivas de colônias durante a semeadura do milho têm sido documentadas na Itália,

Alemanha, Áustria, Eslovênia, EUA e Canadá (GROSS, 2008; KRUPKE *et al*., 2012; SGOLASTRA *et al*., 2012; TAPPARO *et al*., 2012). Devido a essas comprovações científicas, a aderência das coberturas dos neonicotinóides às semente foi aperfeiçoada com o uso de aditivos químicos; foram melhoradas a regulamentação e as técnicas de semeadura através de dispositivos legais obrigatórios em toda a Europa (EC, 2013; MANZONE *et al*., 2016, 2017). Do ponto de vista mecânico, as máquinas de semeadura receberam implantação de deflectores de ar (GODFRAY *et al*., 2014, 2015), mas as emissões ainda são substanciais e os resíduos de nuvens de poeira altamente tóxicos ainda continuam a exterminar as abelhas (BONMATIN *et al*., 2015; KRUPKE; LONG, 2015).

Estudos mostram que os efeitos letais agudos de neonicotinóides em suspensão são aumentados pelo aumento da umidade relativa do ar e que as abelhas transportam as partículas de poeira tóxica em seus corpos para dentro das colmeias (GIROLAMI *et al*., 2012). Os dias quentes e ensolarados também parecem favorecer a dispersão da poeira tóxica (GREATTI *et al*., 2003).

3.6 A CONTAMINAÇÃO SUBLETAL

Pisa *et al*. (2015) concluíram que os efeitos subletais que muitas vezes têm consequências letais em um cenário de campo até hoje não foram estudados profundamente na maioria dos organismos, no entanto, eles têm sido estudados mais profundamente em abelhas e fizeram uma revisão de literatura sobre o impacto dos neonicotinóides sobre os invertebrados não alvos, *Lepidoptera*, *Lumbricidae*, *Apoidea* (*sensu lato*) e outros invertebrados. Mason *et al*. (2014) fizeram estudos em outras poucas espécies silvestres. Doses subletais de neonicotinóides e fipronil vêm sendo administradas, em laboratório, bem abaixo daquelas doses que causam a morte imediata dos invertebrados para se observar os impactos adversos sobre o comportamento desses organismos (PILLING *et al*., 2013).

Efeitos causados pelo imidaclopride, tiametoxam e clotianidina sobre a atividade, locomoção, metabolismo e desenvolvimento ontogenético mostraram uma rápida resposta causando paralisia dos músculos responsáveis pelo voo das abelhas expostas à gutação contendo essas substâncias, resultando na cessação dos movimentos das asas (GIROLAMI *et al*., 2009). O imidaclopride foi o inseticida que mais prejudicou a mobilidade das abelhas, refletindo em alterações do modo de correr, caminhar e no aumento do tempo que as abelhas permaneceram inertes (MEDRZYCKI *et al*., 2003). No entanto, quando expostas a doses subcrônicas de neonicotinóides, não foi observada redução de locomoção em abelhas e mamangavas (CRESSWELL *et al*., 2012b).

O desenvolvimento ontogenético é um período crucial que determina a integridade fisiológica e funcional dos indivíduos adultos. Assim, além dos efeitos nos adultos, os neonicotinóides podem atuar sobre o desenvolvimento das larvas com consequências na fase adulta. As abelhas adultas expostas ao imidaclopride na fase larval mostraram um desequilíbrio de comportamento associativo olfativo (YANG *et al*., 2012). Isso pode ter acontecido devido ao desenvolvimento neural ter sido afetado pelos neonicotinóides e fipronil.

O desenvolvimento do corpo cerebral das abelhas e suas habilidades para caminhar foram prejudicados quando amostras expostas ao imidaclopride foram observadas durante o período larval (TOMÉ *et al*., 2012). Os efeitos sobre abelhas adultas expostas durante a fase larval também podem ser atribuídos à indução por imidaclopride às larvas e consequente morte celular na fase adulta (GREGORC; ELLIS, 2011). Nas fases iniciais da vida adulta, após a emergência, o imidaclopride pode perturbar o desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas (produtoras de geleia real), diminuindo o tamanho dos ácinos (gânglios em forma de uvas) e através do aumento da expressão das proteínas hsp70 e hsp90 (HATJINA *et al*., 2013; SMODIŠ ŠKERL *et al*., 2009).

Derecka *et al*. (2013) expuseram colônias no campo durante 15 dias com xarope contaminado com 2 µg/L de imidaclopride. Eles descobriram que esses níveis de imidaclopride, que estão no limiar mais abaixo de uma dosagem usada no campo (*LOEC*), significativamente impactaram o metabolismo energético em larvas de abelhas operárias.

Os impactos dos agrotóxicos sobre o metabolismo podem afetar as vias metabólicas desintoxicantes, intermediárias e energéticas. O imidaclopride prejudica o metabolismo cerebral levando a um aumento da citocromo-oxidase nos lóbulos cerebrais das abelhas (DECOURTYE *et al*., 2004a, b).

Os efeitos sobre o comportamento, a aprendizagem e a memória alteram o funcionamento ideal do sistema nervoso das abelhas, que é fundamental para a sobrevivência dos indivíduos e da colônia (DESNEUX *et al*, 2007; THOMPSON; MAUS, 2007). Pesquisadores têm dedicado esforços em desenvolver pesquisas para melhorar a compreensão de como as exposições subletais aos neonicotinóides e fipronil podem afetar o sistema nervoso das abelhas. Há evidências de que as exposições subletais podem afetar a aprendizagem, a memória e a orientação das abelhas (PISA *et al*., 2015; STANLEY *et al*., 2016).

Experimentos de laboratório em que foram administradas uma dose única de imidaclopride demonstraram que o aprendizado das abelhas foi alterada (GUEZ *et al*., 2001;

LAMBIN *et al*., 2001) e exposições a doses subletais crônicas por imidaclopride e fipronil ao mesmo tempo, demonstraram que o aprendizado e forrageamento foram prejudicados (DECOURTYE *et al*., 2003). Além disso, foi demonstrado também que o tiametoxam diminui a capacidade de memória das abelhas (ALIOUANE *et al*., 2009).

As metodologias e as doses variaram muito em testes de laboratório, mas todas as concentrações utilizadas foram acima de 20 ppb e isso representa o limite superior das concentrações encontradas na maioria das situações de campo. Essas concentrações não seriam encontradas em pólen ou néctar a partir de aplicações de cobertura de sementes, mas têm sido encontradas em flores de cucurbitáceas após aplicações de rega do solo (DIVELY; HOOKS, 2009) ou pulverizações foliares (SILVA *et al*., 2015).

Os experimentos de campo oferecem um potencial para testes mais poderosos, no entanto, os resultados de um modo geral não têm sido conclusivos e muitas vezes apresentam resultados opostos. A maioria dos estudos focaliza a orientação das abelhas operárias indo e voltando à fonte de alimento (MATSUMOTO, 2013).

Um estudo que treinou abelhas forrageiras a se alimentar de um xarope de açúcar se locomovendo através de um intrincado labirinto, demonstrou que 38% das abelhas encontraram a fonte de alimento após a ingestão de 3 ng/abelha de tiametoxam, em comparação com 61% em um grupo de controle que não foi exposto ao neonicotinóide (DECOURTYE; DEVILLERS, 2010).

Uma série de estudos treinando forrageiras a encontrarem um alimentador com xarope de açúcar descobriram que elas foram incapazes de voltar para a colmeia após a ingestão de imidaclopride em concentrações que variam de 100 a 1.000 ppb (BORTOLOTTI *et al*., 2003; RAMIREZ-ROMERO *et al*., 2005; YANG *et al*., 2008).

Em contraste com outros estudos simulando situações de campo, não mostraram efeitos sobre o forrageamento ou sobrevivência após a exposição a colza, milho e girassol cultivadas a partir de sementes tratadas com neonicotinóides (CUTLER; SCOTT-DUPREE, 2007; NGUYEN *et al*., 2009; SCHMUCK *et al*., 2001).

Em recentes estudos em plantações de colza, Botías *et al*. (2015, 2016) encontraram concentrações médias de 3,26 ng/g de tiametoxam, 2,27 ng/g de clotianidina e 1,68 ng/g de tiaclopride no pólen e 3,20 ng/g de tiametoxam, 2,18 ng/g de clotianidina e 0,26 ng/g de tiaclopride no néctar coletados por abelhas em situação real de campo.

Xu *et al*. (2016) encontraram baixos níveis clotianidina, em média de 0,6 ng/g em néctar de colza e 1.8 ng/g em pólen de milho coletados por abelhas, posteriormente confirmado por Alburaki *et al*. (2017).

Explicações para esses resultados conflitantes podem sugerir que quando é dada uma gama de oportunidades de forrageamento, as abelhas podem reduzir visitas às fontes de alimento contendo agrotóxicos (COLIN *et al*., 2004; ROCHA, 2012), ou que os neonicotinóides não tenham causado efeito sobre as colônias nos níveis de exposição testados.

Henry *et al*. (2012a) descreveram os resultados de experimentos de campo utilizando microcircuitos de identificação por radiofrequência (RFID) para determinar os efeitos prejudiciais em nível de colônia sobre a orientação das abelhas campeiras alimentadas individualmente com uma dose subletal de tiametoxam (1,34 ng em 20,0 µl de xarope de sacarose). Em dois experimentos distintos as taxas de não retorno das campeiras à colônia foram de 10,2% e 31,6%, em relação às campeiras de controle. O aumento da característica de não retorno foi atribuído à função de orientação dificultada pelo tratamento com tiametoxam.

Cresswell e Thompson (2012) sugeriram alterar a simulação ligeiramente de modo a refletir o período em que as culturas de sementes tratadas com neonicotinóides e fipronil estivessem florindo e demonstraram que o risco de colapso já não era tão evidente. No entanto, uma seguinte simulação feita por Henry *et al*. (2012b), utilizando um conjunto de dados maior, que incorporou uma série de estimativas de crescimento de colônias extraídas de dados de campo revelou desvios ainda mais negativos.

A partir desse estudo de índices de perdas de campeiras, foram feitos outros estudos de modelagem virtual das colônias afetadas e os pesquisadores descobriram desvios muito grandes nas taxas de crescimento quando comparados às colônias normais (BECHER *et al*., 2014; CHARPENTIER *et al*., 2014, HENRY *et al*., 2016).

Resultados controversos em simulações de modelos computadorizados refletem o panorama de incerteza que as pesquisas sobre abelhas são conduzidas e reforçam ainda mais a importância de se criar modelos mais robustos e representativos de cenários mais próximos da realidade possível (THORBEK *et al*., 2017a). A principal contribuição desses trabalhos foi a demonstração de que doses subletais podem impor fatores de *stress* (ex.: não retorno das campeiras, forrageamento deficiente) que podem ter resultados catastróficos para as colônias (BENUSZAK *et al*., 2017; THORBEK *et al*., 2017b).

Aprendizagem e memória são funções fundamentais nas interações entre os indivíduos com o meio ambiente e são condições necessárias para permitir que as abelhas respondam às exigências da colônia ao longo da sua vida. O imidaclopride prejudica a aprendizagem e o desempenho olfativo das abelhas através das duas maneiras de exposição, aguda e crônica, e as abelhas em períodos quentes, parecem mais sensíveis do que em períodos frios (DECOURTYE *et al*., 2003). Esses efeitos foram observados tanto no campo

quanto em laboratório e as colônias não se recuperaram após o tratamento com o imidaclopride. Resultados obtidos com o acetamipride e o tiametoxam mostraram que a ação dos neonicotinóides depende do nível e do grau de exposição e não pode ser generalizado para compostos estruturalmente relacionados. Ao contrário de exposições de contato, a exposição oral ao acetamipride resultou em uma deterioração da capacidade olfativa (EL HASSANI *et al*., 2008). Por outro lado, para tiametoxam, a exposição subcrônica não aguda, provocou uma diminuição na capacidade olfativa e de aprendizagem (ALIOUANE *et al*., 2009; EL HASSANI *et al*., 2008).

Os neonicotinóides e o fipronil têm rotas específicas de metabolismo em insetos, em especial nas abelhas e têm influências complexas sobre os processos de aprendizagem e memória. O imidaclopride e o tiametoxam transformam-se em metabólitos tóxicos que podem potencialmente se ligar a diferentes receptores nicotínicos de acetilcolina (*nAChRs*) das abelhas (BENZIDANE *et al*., 2010; CASIDA, 2011; FORD; CASIDA, 2006; NAUEN *et al*., 2001, 2003; SUCHAIL *et al*., 2001, 2004a). O metabolismo do acetamipride resulta no aparecimento de distintos metabólitos nas abelhas, entre os quais o ácido 6-cloronicotínico, que é tóxico em exposição crônica, mas não é tóxico em exposição aguda e permanece estável durante pelo menos 72 horas, especialmente na cabeça e no tórax das abelhas (BRUNET *et al*., 2005; SUCHAIL, *et al*., 2001, 2004a). Se levarmos em conta a presença de múltiplos metabólitos ativos durante o período de ação do tratamento, é muito difícil saber quais etapas do processo de memória (aquisição, consolidação e recuperação) são afetadas pelos neonicotinóides e seus metabólitos (PISA *et al*., 2015).

Os neonicotinóides e o fipronil alteram os padrões de comportamento cognitivo (conhecimento adquirido pelos sentidos) das abelhas, após a exposição de contato a uma dose subletal de neonicotinóide ou fipronil (GUEZ *et al*., 2001; LAMBIN *et al*., 2001). Alterações induzidas pelo imidaclopride nos hábitos das abelhas parecem variar, dependendo da idade da abelha e do tempo transcorrido após a exposição. Além disso, essas alterações podem ocorrer devido a fatores tais como a sensibilidade diferencial dos diferentes receptores de nicotina-acetilcolina (*nAChRs*) para o imidaclopride (BARBARA *et al*., 2008; BODEREAU-DUBOIS *et al*., 2012; DÉGLISE *et al*., 2002; DUPUIS *et al*., 2011; FAROOQUI, 2013; GAUTHIER, 2010; THANY *et al*., 2003; THANY; GAUTHIER, 2005), ou a acumulação de metabólitos do imidaclopride como a olefina e o 5-hidroxi-imidaclopride, o que pode retardar ou acelerar o comportamento cognitivo (GUEZ *et al*., 2001, 2003).

Olfato e paladar são sentidos fisiológicos muito importantes para as abelhas. Os efeitos dos neonicotinóides e do fipronil na gustação podem ser explorados através de estudos

da modulação do limiar de paladar, que pode ser definida como a menor concentração de uma solução de sacarose aplicada às antenas da abelha que desencadeie uma resposta na alimentação (*LOEC*) (BALDERRAMA *et al*., 1996; COUVILLON *et al*., 2010; DETZEL; WINK, 1993; GAWLETA *et al*., 2005; GIURFA, 1993; GOULSON *et al*., 2001; KATHER *et al*., 2011; MAISONNASSE *et al*., 2010; REINHARD *et al*., 2004).

Diferentes compostos ativos têm sido usados para induzir efeitos variados sobre a gustação em abelhas. Por exemplo, o fipronil aumenta o limiar de paladar em abelhas submetidas à exposição de contato (EL HASSANI *et al*., 2005). Resultados semelhantes foram encontrados para o imidaclopride, entretanto, o acetamipride diminui o limiar de paladar das abelhas que são expostos por via oral, mas não por contato (EL HASSANI *et al*., 2009). O tiametoxam provoca uma diminuição na capacidade de resposta das abelhas à sacarose, e a exposição ao acetamipride aumenta a capacidade de resposta das abelhas à água, independentemente da via de exposição (ALIOUANE *et al*., 2009; EL HASSANI *et al*., 2008).

As diferenças nos efeitos observados podem ser explicadas, em parte, pela metabolização dos neonicotinóides e do fipronil que induzem o aparecimento de metabólitos tóxicos (BRUNET *et al*., 2005; SUCHAIL *et al*., 2004a, b) e pela existência de diferentes *nAChRs*, que são sensíveis ou resistentes a neonicotinóides específicos (BARBARA *et al*., 2008; BODEREAU-DUBOIS *et al*., 2012; DÉGLISE *et al*., 2002; DUPUIS *et al*., 2011; GAUTHIER, 2010; THANY *et al*., 2003; THANY; GAUTHIER, 2005).

A navegação com precisão é essencial para o forrageamento eficiente das abelhas campeiras, e consequentemente, para a sobrevivência da colônia. Os neonicotinóides e o fipronil podem prejudicar a navegação de várias maneiras distintas. Exposições subletais de abelhas à clotianidina e imidaclopride provocam uma diminuição na atividade de forrageamento e induzem a mais voos diários (SCHNEIDER *et al*., 2012).

O tiametoxam, por sua vez, provoca uma alta mortalidade, pois induz a uma falha no comportamento de retorno das abelhas campeiras às suas respectivas colônias, levando a uma grande perda de abelhas mais velhas, o que é vital para a sobrevivência da colônia (HENRY *et al*., 2012a, b). Embora esse efeito já tenha sido comprovado com o piretróide deltametrina há mais de 20 anos (VANDAME *et al*., 1995), os impactos sobre o comportamento de retorno das abelhas campeiras continuam a ser deixados de fora do processo de avaliação para o registro de agrotóxicos.

Forrageamento eficaz é essencial para o desenvolvimento da colônia como um todo e da abelha como indivíduo, pois determina a disponibilidade de alimento, e

consequentemente, sua sobrevivência. A exposição ao imidaclopride, clotianidina ou fipronil pode levar à reduções nas proporções de abelhas ativas na colônia (WU-SMART; SPIVAK, 2016) e além disso, dar início a comportamentos que podem reduzir a eficiência de forrageamento. Por exemplo: indivíduos expostos podem passar longos períodos de tempo em uma fonte de alimento, diminuir a frequência de visitas, aumentar o tempo entre as viagens de forrageamento, desenvolver voos de forrageamento mais demorados, reduzir as distâncias de forrageamento, exibir problemas de repetição das visitas ao mesmo local de alimentação ou exibir redução na capacidade de aprendizagem visual (COLIN *et al*., 2004; ; HAN *et al*., 2010; MORANDIN; WINSTON, 2003; NIELSEN *et al*., 2000; RAMIREZ-ROMERO *et al*., 2005; SCHNEIDER *et al*., 2012; TEETERS *et al*., 2012; YANG *et al*., 2008).

Fischer *et al*. (2014) trataram abelhas adultas com doses subletais de imidaclopride (7,5 e 11,25 ng/abelha), clotianidina (2,5 ng/abelha) e tiaclopride (1,25 µg/abelha) e posteriormente monitoraram os voos das abelhas, individualmente, com um radar harmônico. A taxa de retorno com sucesso foi significativamente menor para as abelhas tratadas com neonicotinóides; posteriormente, as variáveis que dificultariam o voo das abelhas foram reduzidas, como saliências no terreno, obstáculos e curvas de níveis acentuadas e mesmo assim menos voos diretos de retorno à colônia foram realizados.

Perry *et al*. (2015) analisaram o comportamento de abelhas submetidas à tarefa de forrageamento precocemente devido à morte das abelhas campeiras da colônia por intoxicação por neonicotinóides e fipronil. Usando um sistema de monitoramento *RFID* (*Radio Frequency IDentification*), identificação por rádio frequência, concluíram que as abelhas jovens completam poucos voos de forrageamento antes de morrerem e isso acelera dramaticamente o declínio da população da colônia.

Esses estudos mostram que doses subletais de neonicotinóides ou fipronil bloqueiam a recuperação ou alteram a formatação da memória de navegação das abelhas. A reprodução da rainha e o desenvolvimento da colônia podem ser incluídos como considerações finais para avaliar os impactos dos neonicotinóides e do fipronil para as abelhas, pois reprodução e desenvolvimento são condições obrigatórias da fisiologia dos insetos sociais (CHRISTEN *et al*., 2017; FORFERT; MORITZ, 2017; PISA *et al*., 2015; TOSI *et al*., 2017; WU-SMART; SPIVAK, 2016).

Os neonicotinóides tiaclopride, tiametoxam e imidaclopride, provocam uma diminuição na oviposição das rainhas, na eclosão das larvas, na taxa de crescimento das colônias e no número de rainhas emergentes nas abelhas do gênero *Bombus* (BARON *et al*., 2017; CHRISTEN *et al*., 2017; FORFERT; MORITZ, 2017; MOMMAERTS *et al*., 2010;

TASEI *et al*., 2000; TOSI *et al*., 2017; WHITEHORN *et al*., 2012).

Estudos feitos por Laycock *et al*. (2012a, b) sugerem que a redução na produção de crias pode estar associada a uma redução no consumo de açúcar e pólen pelas abelhas adultas. A produção de crias de abelhas em favos contaminados com altos níveis de resíduos de agrotóxicos resulta em um desenvolvimento larval mais demorado, uma emersão tardia e diminuição na longevidade das abelhas adultas (WU *et al*., 2011). Nesse estudo, os favos continham cinco neonicotinóides em concentrações relativamente elevadas, e os autores não conseguiram atribuir os efeitos observados a um único inseticida, ou mesmo a uma classe de inseticidas.

Segundo Cresswell *et al*. (2012a), em um estudo epizoótico envolvendo os Critérios de *Hill* (HILL, 1965), condições mínimas que provem a evidência de uma relação causal, revelou resultados conflitantes sobre o envolvimento de vestígios de neonicotinóides na dieta alimentar que causasse o declínio das populações de abelhas e não foi possível estabelecer uma conexão causal entre as observações de declínio das abelhas e o uso de neonicotinóides.

Entretanto, Lu *et al*. (2014) comprovaram que 12 colônias saudáveis submetidas a tratamento com doses subletais de neonicotinóides, antes do inverno no hemisfério norte, tiveram 50% das colônias tratadas mortas e todas apresentaram sintomas de *CCD* durante o inverno. Dentre as colônias de controle não foram observados sintomas de *CCD* e apenas uma colônia morreu completamente dentro da colmeia. Segundo os autores, isso reforça a conclusão e dá suporte à constatação de que as exposições aos neonicotinóides em doses subletais não parecem comprometer a imunidade das abelhas às infecções patogênicas, acelerando assim as mortes das colônias e sim aos mecanismos pelos quais as exposições subletais aos neonicotinóides sofridas pelas abelhas as fazem desaparecer de suas colônias durante os meses de inverno.

Cresswell *et al*. (2014) concluíram que as *Apis mellifera* recém emergidas se recuperavam de uma contaminação de 125 µg/L de imidacloprid enquanto que as *Bombus terrestris* com 2,4 ng/abelha apresentavam efeitos de contaminação subletal com dificuldades de alimentação e locomoção.

Sánchez-Bayo *et al*. (2017) refazendo esse experimento com a mesma concentração de imidaclopride encontraram alta mortalidade de abelhas (45%) e os resíduos de no corpo das abelhas *Apis* variou entre 2,7–5,7 ng/g. Também observaram comportamento anormal nas abelhas contaminadas.

Já Woodcock *et al*. (2016) publicaram em um estudo de longo prazo (18 anos) e

62 espécies de abelhas observadas, que encontraram fortes evidências conectando o uso dos neonicotinóides às contaminação subletais da maioria destes insetos, principalmente as abelhas *Apis* e *Bombus*. Abelhas forrageando as plantações de colza foram, em média, três vezes mais negativamente afetadas pelos neonicotinóides do que as abelhas de controle. O estudo mostrou que os efeitos subletais dos neonicotinóides aceleram o declínio da biodiversidade das abelhas, contudo, na ausência dos neonicotinóides a recuperação da biodiversidade das espécies parece ser muito rápida, uma vez que não seja atingido o limite de irreversibilidade do bioma.

Quanto às interações entre os agrotóxicos e os agentes patogênicos, sabe-se que os efeitos prejudiciais podem ser aumentados em combinação com outros agentes de *stress* ambiental (MASON *et al*., 2014). Patógenos e parasitas específicos são companheiros ancestrais de algumas populações de abelhas e a movimentação acidental de parasitas e organismos patogênicos pelo homem expôs as abelhas criadas e as abelhas nativas a inimigos exógenos, o que pode ter reduzido a resistência desses insetos (GOULSON, 2003; GRAYSTOCK *et al*., 2013a, b). O imidaclopride pode atuar sinergicamente com o patógeno *Nosema sp*., aumentando a mortalidade provocada por esse fungo (ALAUX *et al*., 2010). Esse fungo afeta a imunidade das abelhas, depositando maior número de esporos nas vísceras dos insetos a partir de colônias expostas aos neonicotinóides e fipronil, que agem como potencializadores da patogenia, diminuindo ainda mais a imunidade das abelhas (PETTIS *et al*., 2012). Exposições frequentes à *Nosema ceranae* podem sensibilizar a imunidade das abelhas expostas aos neonicotinóides e fipronil, provocando a potencialização da nosemose, que leva a altas taxas de mortalidade (AUFAUVRE *et al*., 2012; VIDAU *et al*., 2011).

Outros experimentos com fipronil e *Nosema ceranae* mostraram sensibilização recíproca (AUFAUVRE *et al*., 2012). Além disso, a exposição a inseticidas durante o desenvolvimento embrionário e pós-embrionário dos insetos podem alterar a suscetibilidade de organismos patogênicos às abelhas adultas. Por exemplo: abelhas que se desenvolvem em favos que contenham altos níveis de resíduos de inseticidas, quando adultas, terão maior possibilidade de exibirem níveis mais elevados de infecção por *Nosema ceranae* e maior quantidade de seus esporos. (WU *et al*., 2012); as falhas observadas na oviposição das rainhas nos últimos anos podem ser resultados de exposições contínuas dos zangões aos agrotóxicos (KAIRO *et al*., 2016; 2017a, b).

Di Prisco *et al*. (2013) demonstraram que a clotianidina modula negativamente o fator nuclear potencializador "κ" de cadeia leve (*kappa-light-chain-enhancer*) das células *B*-ativadas (*NF-κB*), uma proteína envolvida na transcrição do DNA de imunossinalização em

insetos e afeta adversamente as defesas antivirais controladas por esse fator de transcrição nas abelhas. Foi identificado um modulador negativo de ativação do *NF-κB* específico para insetos. A exposição à clotianidina, através do aumento da transcrição do gene que codifica esse inibidor, reduz as defesas imunológicas e promove a replicação do vírus da asa deformada (*DWV - deformed wing virus*) presente nas abelhas. Imunossupressão semelhante também foi encontrada com tratamento por imidaclopride. A ocorrência dessa proliferação viral induzida por neonicotinóides e fipronil em doses subletais que estão dentro dos padrões de concentrações de utilização no campo sugere que os neonicotinóides e o fipronil são suscetíveis a causar o declínio das populações de abelhas (PISA *et al*., 2015). Quanto às interações entre os agrotóxicos e seus metabólitos nos ecossistemas agrícolas, as abelhas raramente são expostas a apenas um único agrotóxico (SILVA *et al*., 2015). Exposições combinadas são de grande preocupação porque podem provocar sinergias e potencializações (SAMSON-ROBERT *et al*., 2017; SCHMUCK *et al*., 2003; TSVETKOV *et al*., 2017; WOODCOCK *et al*., 2017).

Em análises de abelhas contaminadas e dos conteúdos de suas colônias mostraram que as abelhas são, muitas vezes, expostas a vários tipos de agrotóxicos ao mesmo tempo (KRUPKE *et al*., 2012; MULLIN *et al*., 2010; PARADIS *et al*., 2014), entretanto, o estudo de interações entre agrotóxicos pode se tornar um grande desafio (LYDY *et al*., 2004) e há uma escassez de informações na literatura a respeito das misturas encontradas pelas abelhas em situações de campo. Fungicidas à base de triazol foram encontrados no pólen, já estocado, dentro dos favos das colmeias (KRUPKE *et al*., 2012) e foi comprovado que eles potencializavam a toxicidade de alguns neonicotinóides (acetamipride e tiaclopride) em até 559 vezes, em testes de laboratório, embora os mesmos resultados não tenham sido encontrados em estudos de campo (SCHMUCK *et al*., 2003). Butóxido de piperonil também foi encontrado no pólen armazenado e foi demonstrado que potencializa a toxicidade dos mesmos neonicotinóides (acetamipride e tiaclopride) em até 244 vezes, em testes de laboratório (IWASA *et al*., 2004). Apesar dos desafios associados a esse tipo de pesquisa, existe atualmente uma grande carência de conhecimento a esse respeito, que deve ser esclarecida no futuro, visto que as abelhas dificilmente encontram apenas um agrotóxico durante o forrageamento, ou no interior da colmeia.

Em se tratando de mamangavas e abelhas solitárias, sabe-se que as mamangavas são abelhas sociais primitivas. As colônias começam a se formar a partir da hibernação das rainhas, e inicialmente emergem algumas centenas de operárias adultas que morrem quando novas rainhas e zangões emergem. Um pequeno número de *Bombus spp.* (espécies de

mamangavas) são comercialmente criados para a polinização, mas muitas dessas abelhas nativas, de ecossistemas locais, também contribuem para a polinização das culturas agrícolas e da vegetação silvestre (BOSCH; KEMP, 2006; CHAGNON *et al*., 1993; GOULSON, 2010; GREENLEAF; KREMEN, 2006). As mamangavas são criadas comercialmente para a polinização de culturas agrícolas como a alfafa, o tomate, o pimentão, a pimenta, o maracujá e outras culturas (VELTHUIS; VANDOORN, 2006). Além das abelhas criadas, existem mais de 20.000 espécies de abelhas nativas no mundo, muitas das quais contribuem para a polinização das culturas agrícolas e todas contribuem para a polinização das flores silvestres (MICHENER, 2000). As abelhas do gênero *Bombus* são um forte marcador da saúde dos ecossistemas, devido à sua enorme sensibilidade aos agentes etiológicos e organismos nocivos introduzidos nos biomas antropicamente (HATFIELD *et al*., 2012). Além disso, espécies que nidificam em tocas podem enfrentar riscos adicionais de exposição, quando contaminadas com agrotóxicos de solo. Embora mamangavas sejam maiores, as abelhas solitárias são menores que as abelhas *Apis*, de modo que essas espécies provavelmente recebem uma dose percentual maior de agrotóxico em relação ao seu peso corporal do que as abelhas *Apis* (PISA *et al*., 2015).

Os níveis de exposição das abelhas silvestres são pouco estudados e consequentemente mal compreendidos. Embora os níveis de neonicotinóides sejam quantificados no néctar e pólen de várias espécies de culturas agrícolas, a quantificação da intoxicação das abelhas silvestres com esses agentes químicos não tem sido medida e os valores básicos de toxicidade, tais como a DL_{50} e CL_{50}, são desconhecidos para a grande maioria dessas espécies. Os poucos estudos que existem têm utilizado uma variedade de métodos, com resultados conflitantes que tiram conclusões gerais. Além disso, esses estudos são criticados pelo baixo tamanho das amostras, o que limita o poder de observar os efeitos em condições artificiais de laboratório (CRESSWELL, 2011; EFSA, 2012).

É claro que os neonicotinóides e o fipronil são altamente tóxicos para todas as espécies de abelhas testadas até agora, que além das abelhas *Apis*, incluem-se várias espécies de abelhas *Bombus*, várias espécies abelhas nativas, sem ferrão, sociais e abelhas solitárias (GRADISH *et al*., 2010; MOMMAERTS *et al*., 2010; SCOTT-DUPREE *et al*., 2009; TOMÉ *et al*., 2012; VALDOVINOS-NÚÑEZ *et al*., 2009).

Cresswell *et al*. (2012a, b) demonstraram que as mamangavas apresentaram respostas subletais ao imidaclopride a 10 ppb, enquanto as abelhas *Apis* não foram afetadas com essa concentração. Scott-Dupree *et al*. (2009) descobriram que as mamangavas *Megachile rotundata* e *Osmia lignaria* são mais sensíveis ao clotianidina e imidaclopride do

que a *Bombus impatiens*.

Stark *et al*. (1995) não encontraram nenhuma diferença na intoxicação de contato por DL_{50} em 24 horas com imidaclopride entre as abelhas *Apis* e as abelhas *Bombus* solitárias *Megachile rotundata* e *Nomia melanderi*. Scott-Dupree *et al*. (2009) demonstraram que as *Bombus impatiens* foram mais tolerantes ao tiametoxam e clotianidina do que as *Osmia lignaria* e as *Megachile rotundata*.

Entretanto, Abbott *et al*. (2008) descobriram que a *Osmia lignaria* apresenta incubação e desenvolvimento retardados quando alimentados com imidaclopride com doses de 30 a 300 µg/kg. Arena e Sgolastra (2014) compararam a toxicidade aguda de vários agrotóxicos e descobriram que a *Scaptotrigona postica* e a *Megachile rotundata* eram mais sensíveis do que as abelhas *Apis mellifera* ao fipronil, enquanto a *Nomia melanderi* foi mais tolerante. Sgolastra *et al*. (2017) e Spurgeon *et al*. (2016) também chegaram a conclusões idênticas comparando a toxicidade aguda em outras espécies e concluíram que espécies com menor massa corporal possuem maior sensitividade aos neonicotinóides e fipronil. Esses resultados sugerem que outras abelhas podem ser pelo menos tão sensíveis, senão mais sensíveis aos neonicotinóides e ao fipronil que as abelhas *Apis mellifera*.

Outra série de estudos têm utilizado pequenas colônias de abelhas órfãs (contendo apenas as abelhas operárias) para examinar os efeitos subletais da exposição cumulativa aos neonicotinóides e fipronil em doses abaixo do padrão operacional de campo. Vários estudos não encontraram efeitos detectáveis.

Tasei *et al*. (2000) expuseram colônias de *Bombus terrestris* a concentrações entre 6 e 25 ppb de imidaclopride e não encontraram uma concentração de efeito observado mínima (*LOEC*). Franklin *et al*. (2004) expuseram colônias de *Bombus impatiens* a concentrações entre 1 e 36 ppb de clotianidina e não conseguiram detectar uma concentração de efeito observado mínima (*LOEC*). Laycock *et al*. (2012a, b) expuseram pequenas colônias de *Bombus terrestris* a uma faixa de 0-125 ppb de imidaclopride e detectaram uma redução de 30% na fecundidade em doses abaixo de 1 ppb.

Abbott *et al*. (2008) fizeram um experimento de comparação da toxicidade entre várias espécies de abelhas injetando concentrações de 0-300 ppb de neonicotinóides em células de pólen de *Osmia lignaria* e *Megachile rotundata*, não observando efeito mensurável sobre o desenvolvimento larval (*NOEC*). Notaram também que os efeitos negativos parecem ser detectados com mais frequência e em concentrações mais baixas quando as abelhas têm que sair dos ninhos para forragear, mesmo quando as distâncias são pequenas.

Mommaerts *et al*. (2010) não encontraram efeitos da exposição ao imidaclopride

em micro colônias de *Bombus terrestris* em concentrações de produção agrícola no campo (*field realistic doses*) quando o alimento foi fornecido no ninho, mas quando as operárias tiveram que caminhar apenas 20 centímetros por um tubo de condução para recolher o alimento encontraram efeitos subletais significativos na atividade de forrageamento, com uma concentração de efeito subletal (EC_{50}) com mediana de apenas 3,7 ppb. Os mesmos pesquisadores também estudaram o forrageamento de colônias com rainhas em uma estufa onde o alimento foi colocado a 3 metros do ninho, através de um tubo condutor e descobriram que a ingestão de 20 ppb de imidaclopride causaram significativa mortalidade das operárias, com abelhas mortas até mesmo no alimentador.

Quando as abelhas campeiras deixam a colônia para forragear, nota-se que os efeitos da intoxicação pelos agrotóxicos são mais acentuados, provavelmente devido ao forrageamento natural no bioma e ao esforço despendido durante a viagem com alterações no metabolismo das abelhas (KNIGHT *et al*., 2005; OSBORNE *et al*., 2008). Quatro estudos examinaram os impactos da exposição aos neonicotinóides em abelhas nativas.

Tasei *et al*. (2001) colocaram colônias de *Bombus lucorum* no campo durante um período de nove dias; um grupo de 10 colônias foram colocadas na borda de uma plantação de girassol pulverizada com imidaclopride e outro grupo de 10 colônias na borda de um campo de controle também plantado com girassol. Nesse período de nove dias, o número de campeiras exposta ao imidaclopride que falharam em retornar às colônias foi 54% maior se comparado às colônias de controle; no entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa porque o tamanho das amostras foi muito pequeno. Após nove dias, as colônias voltaram ao laboratório e foram alimentadas à vontade. As colônias tratadas anteriormente com imidaclopride se desenvolveram mais lentamente, mas a diferença não foi estatisticamente significativa.

Gill *et al*. (2012) alimentaram colônias de *Bombus terrestris* com 10 ppb de imidaclopride em água açucarada e paralelo a isso permitiram que as abelhas pudessem forragear na natureza. As abelhas expostas ao imidaclopride trouxeram pólen com menos frequência e cargas menores, quando comparadas às abelhas do grupo de controle.

Feltham *et al*. (2014) simularam uma exposição de colônias de *Bombus terrestris* com rainhas a uma plantação em floração de colza (*oilseed rape*) contaminada, fornecendo-lhes água com açúcar e pólen a 0,7 e 6 ppb de imidaclopride, respectivamente, durante duas semanas. Eles confirmaram uma redução de 57% de pólen trazido para as colônias, que continuou por quatro semanas após o fim do tratamento.

Whitehorn *et al*. (2012) utilizaram também doses de 0,7 e 6 ppb de imidaclopride

e depois deixaram as colônias se desenvolverem naturalmente no campo. Eles registraram significativa redução no desenvolvimento do ninho e uma redução de 85% na produção de rainhas em comparação com colônias de controle. Essa redução no desenvolvimento das colônias se dá, provavelmente, devido a uma combinação de fatores, tais como entrada de pólen (FELTHAM *et al*., 2014; GILL *et al*. 2012) e fertilidade prejudicada das rainhas (LAYCOCK *et al*., 2012a, b).

Schöler; Krischik (2014) conduziram um estudo de onze semanas com colônias de *Bombus impatiens* com rainhas, confinadas em estufa, onde foram alimentadas com 0, 10, 20, 50 e 100 ppb de imidaclopride e clotianidina em calda de açúcar à 50%, respectivamente. Em seis semanas de observações, a mortalidade das rainhas foi maior com 50 e 100 ppb e em onze semanas atingiu a faixa de 20-100 ppb.

O experimento concluiu que a partir de 20 ppb há um aumento estatisticamente significativo na morte das rainhas (37% para o imidaclopride e 56% para o clotianidina), há uma diminuição na movimentação das operárias e uma redução significativa na relação consumo de alimento e ganho de peso da colônia, se comparadas ao controle. Com concentrações de 10 ppb de imidaclopride e 50 ppb de clotianidina, a produção de zangões foi significativamente reduzida (SCHÖLER; KRISCHIK, 2014).

Bryden *et al*. (2013) projetaram um modelo simulador do desenvolvimento de mamangavas para avaliar os impactos dos efeitos subletais sobre os indivíduos à nível de colônia. O estudo mostrou que as colônias de mamangavas declinam quando expostas à níveis subletais regulares de neonicotinóides. Isto é explicado pela redução do comprometimento das funções do indivíduo sobre a colônia. As abelhas das colônias de espécies sociais têm consciência coletiva, por isso, uma dependência positiva da densidade da colônia, que está sujeita ao Efeito *Allee* (ALLEE, 1927). Esse estudo discorre sobre o fenômeno da agregação entre os animais, inclusive as abelhas, e suas consequências. Existe um nível de tensão crítico para o sucesso de uma colônia de abelhas, sendo que um pequeno aumento no nível de tensão pode fazer uma grande diferença entre o fracasso e sucesso da colônia.

Parece provável que as abelhas intoxicadas sejam totalmente capazes de coletar alimento quando oferecido de modo intranidal, mas quando as abelhas têm que voar longas distâncias para coletar néctar e pólen de flores aleatoriamente distribuídas, os efeitos da intoxicação se tornam mais evidentes. Estudos têm se concentrado principalmente nos efeitos comportamentais das abelhas adultas logo após a exposição aos neonicotinóides e fipronil, mas estudos realizados durante os estágios larvais com abelhas *Apis mellifera* (YANG *et al*., 2012) e abelhas sem ferrão (TOMÉ *et al*., 2012) expostas aos neonicotinóides e fipronil

confirmaram que elas têm o desenvolvimento do sistema nervoso central prejudicado e portanto, um desempenho reduzido dessas operárias adultas até várias semanas após a exposição da colônia.

Portanto, as implicações de avaliação de risco são claras: estudos de laboratório e até mesmo estudos de campo onde as colônias são colocadas adjacentes às culturas tratadas, não são apropriados para a detecção de tais impactos. Da mesma forma, os experimentos precisam ser executados por um período de tempo mais extenso para que se possa avaliar os efeitos em longo prazo da exposição sobre a saúde das abelhas (ALIX; VERGNET, 2007).

Os dados toxicológicos existentes sugerem que os impactos sobre a *taxa* diversificada das abelhas são muito semelhantes à nível de indivíduo, com alguma evidência de que as mamangavas e as abelhas solitárias podem ser mais sensíveis aos agrotóxicos do que as abelhas *Apis mellifera* (SCHÖLER; KRISCHIK, 2014). Doses operacionais de campo de neonicotinóides e fipronil podem ter uma série de efeitos prejudiciais significativos para o desenvolvimento larval, a fertilidade da rainha adulta, o comportamento da operária adulta, a alimentação e o desempenho da colônia de espécies sociais. No entanto, os efeitos dos neonicotinóides e fipronil sobre a grande maioria das espécies de abelhas não foram examinados e é necessário cautela ao extrapolar de espécies sociais para espécies solitárias. Nenhum estudo ainda avaliou os impactos dos neonicotinóides sobre as espécies solitárias em condições de campo.

Pode-se dizer que uma colônia de abelhas *Apis mellifera* mais populosa e também de algumas abelhas sem ferrão poderiam compensar o mau desempenho na redução de forrageamento dessas espécies, bem como de quaisquer erros de navegação por parte das abelhas campeiras, entretanto, isso é pouco provável que seja o caso tanto para colônias de mamangavas, que têm apenas algumas centenas de operárias, quanto para abelhas solitárias, onde uma única fêmea é a responsável pela provisão do ninho. Assim, os impactos à nível de população podem ser inversamente relacionados aos níveis de sociabilidade (PISA *et al*., 2015).

3.6.1 Síndrome do colapso da colônia – *CCD* (*Colony Collapse Disorder*)

CCD é um fenômeno que acontece quando as abelhas operárias de uma colônia desaparecem deixando para trás a rainha, os favos cheios de alimento e as abelhas nutrizes para cuidar das crias (VANENGELSDORP *et al*., 2007).

Fenômenos semelhantes têm acontecido ao longo da história. Doença de maio, colapso de outono, síndrome do ácaro vampiro, doença da redução de outono (OLDROYD,

2007) foram alguns nomes dados a fenômenos anteriores. Rebatizado por Cox-Foster *et al*. (2007a) como *Colony Collapse Disorder*, quando foi formado na Universidade da Pensilvânia o Grupo de Trabalho para Estudos do *CCD*, ainda hoje não tem todos os seus mecanismos de ação entendidos e descritos (BECHER *et al*., 2013; LU *et al*., 2014; SMITH *et al*., 2013).

Os sintomas de *CCD* numa colônia podem ser evidenciados pelas seguintes condições:

- ausência de abelhas campeiras
- ausência de abelhas mortas na frente do alvado
- presença de cria operculada nos favos de cria
- presença da rainha
- presença de mel e pólen nos favos de alimentação
- ausência de saqueadores
- insuficiente número de operárias para cumprir todas as tarefas internas
- campeiras parecem jovens demais para as tarefas externas
- abelhas sem disposição de consumir suplemento alimentar.

Relatado pela primeira vez nos Estados Unidos no outono 2006 (HACKENBERG, 2007) e pesquisado inicialmente por vanEngelsdorp *et al*. (2007) foram registradas perdas entre 30 e 90% das colônias de abelhas durante a passagem do inverno, quando normalmente as perdas médias giravam em torno de 16% (COX-FOSTER *et al*., 2007b; JOHNSON, 2010; VANENGELSDORP *et al*., 2007).

Na Europa, o fenômeno foi observado por apicultores na Bélgica, França, Holanda, Grécia, Itália, Portugal, Espanha, Alemanha, Suíça e Irlanda do Norte, com perdas entre 40 e 50% (BIESMEIJER *et al*., 2006; DUPONT, 2007; EFSA, 2008; STEINBERGER, 2007). Naquele momento a culpa do alto índice de mortalidade recaiu sobre uma maior incidência de varroa, dois verões excepcionalmente úmidos na Europa e alguns agrotóxicos.

Em julho de 2007 o governo norte americano lançou o *CCD Action Plan* (USDA, 2007), que traçava estratégias para abordar o *CCD* em quatro frentes:

- pesquisa e coleta de dados através de questionários
- análise de amostras
- pesquisa baseada em hipóteses e
- mitigação com ação preventiva.

Quando o primeiro relatório anual foi publicado (USDA, 2009) sugeria que o *CCD* era causado pela interação de vários fatores combinados. No mesmo ano vanEngelsdorp

et al. (2009) publicaram estudo que concluía:

> De 61 variáveis quantificadas (incluindo fisiologia de abelhas adultas, carga patogênica e níveis de agrotóxicos) não foi encontrado um fator único com consistência para sugerir um agente causal. As abelhas em colônias com *CCD* tiveram maiores cargas patogênicas e foram infectadas com mais patógenos do que a população de controle, sugerindo ou uma maior exposição ou as defesas imunológicas reduzidas nas abelhas com *CCD* (VANENGELSDORP *et al*., 2009; tradução do autor).

Goulson *et al*. (2015) fizeram uma revisão de 170 arquivos publicados sobre *CCD* e concluíram que as interações entre parasitas, agrotóxicos e dieta são fatores que disparam o problema do *CCD*. Afirmam que:

> Abelhas de todas as espécies são susceptíveis a encontrar múltiplos estressores durante suas vidas e cada um é susceptível de reduzir a capacidade das abelhas para lidar umas com as outras. Uma abelhas ou colônia de abelhas que pareçam ter sucumbido a um patógeno poderia não ter morrido se não tivesse sido também exposta a uma dose subletal de um agrotóxico e/ou estivesse sujeita a estresse alimentar (que por sua vez poderia ser devido à seca ou enchente provocadas pelas mudanças climáticas, ou pela concorrência por alimento entre muitas colmeias de abelhas colocadas próximas entre si). Infelizmente, estudos repetidos sobre os efeitos das interações entre múltiplos estressores em colônias de abelhas são extremamente difíceis. O número de combinações de estressores rapidamente se torna grande e a exposição a estressores é difícil ou impossível de controlar em abelhas voando livremente. No entanto, uma grande discussão pode ser feita, que é a interação entre parasitas, agrotóxicos e dieta que está no centro dos problemas atuais de saúde das abelhas (GOULSON *et al*., 2015; tradução do autor).

Atualmente o USDA (*United States Department of Agriculture*) financia pesquisas à organização não governamental BIP (*Bee Informed Partnership*), projeto do Departamento de Entomologia da Universidade de Maryland, College Park, USA, liderado pelo professor Dennis vanEngelsdorp, que faz o monitoramento anual do *CCD* nos Estados Unidos coletando dados para pesquisa de 6.500 apicultores norte-americanos. Essas pesquisas se desenvolvem no sentido de estabelecer os mecanismos do *CCD* em quatro frentes:

- análise de dados coletados de apicultores
- análise ambiental
- análise de amostras de abelhas frente a patógenos, parasitas e agrotóxicos
- análise de amostras de larvas, pupas e abelhas adultas quanto à patofisiologia (KULHANEK *et al*., 2017; VANENGELSDORP *et al*., 2017).

O *CCD* é responsável por grandes perdas na agricultura porque a grande maioria das culturas agrícolas precisam da polinização das abelhas manejadas (KLEIN *et al*., 2007) Relatório da FAO (2005) reportava que o valor da produção de alimentos que dependiam exclusivamente das abelhas para polinização estava estimado em 200 bilhões de dólares americanos. A escassez de abelhas para polinização elevou o custo do aluguel de colmeias

para polinização de US$ 45.00 por colmeia no início de 2000 para US$ 171.00 no final de 2017, um aumento de 280% em 17 anos (USDA, 2017).

Os mecanismos do *CCD* ainda são desconhecidos. Muitos fatores são apontados, mas a comunidade científica não acredita que um único fator seja responsável por esse fenômeno e sim um conjunto de fatores agindo aditivamente e sinergicamente (BECHER *et al*., 2013; GEOFFREY, *et al*., 2010; SMITH *et al*., 2013; USDA, 2012; VAN DER SLUIJS *et al*., 2013; VANENGELSDORP, 2008). Acreditam que maioria desses fatores tem relação com as atividades humanas que espalham parasitas e patógenos, manejo inadequado, pesticidas, fatores genéticos, estresses nutricionais e ambientais, falha das rainhas, fome e imunodeficiências. O parasita *Varroa destructor* e seus vírus associados (RATNIEKS; CARRECK, 2010) e o parasita do sistema gástrico *Nosema spp.* estiveram ambos ligados ao declínio das colônias em altos índices (HIGES *et al*., 2008). Há uma preocupação crescente sobre o papel dos agrotóxicos nas perdas de colônias de abelhas (HENRY *et al*., 2012a) e nos déficits nutricionais decorrentes da diversidade floral limitada das monoculturas que têm sido associadas a taxas elevadas de declínio das colônias (HUANG, 2012). É provável que todos esses fatores contribuam para a elevada taxa de perdas de colônias atualmente experimentada na maior parte da Europa e da América do Norte (NEUMANN; CARRECK, 2010; STEINHAUER *et al*., 2014).

Em 2012, o *WCC – World Conservation Congress*, lançou uma resolução (Res-127-EN), em que denuncia os neonicotinóides, o fipronil e outros inseticidas sistêmicos como prováveis causadores do "distúrbio do declínio das colônias" de abelhas (*CCD*), do declínio dos polinizadores silvestres e da entomofauna, e dos riscos ecológicos associados ao uso desses inseticidas (WCC, 2012).

Em 2013, a União Europeia baniu temporariamente os neonicotinóides clotianidina, imidaclopride e tiametoxam (EU, 2013) e em 2018 os baniu definitivamente (EU, 2018; STOKSTAD, 2018).

Alguns países afortunadamente não convivem com o problema do *CCD*, como nos casos do Canadá com raros casos de ocorrências e da Austrália, que não registrou até 2017 nenhuma ocorrência (ENTINE, 2013, 2018). Surpreendentemente esse país também não registra a presença do parasita *Varroa destructor* e consequentemente não há casos de varroatose no país (MORTON, 2014; PHILLIPS, 2015).

Roberts *et al*. (2017) concluíram que a ausência de varroa na Austrália conduz à ausência do *DWV* (*deformed wing virus*), pois essa interação entre parasita e vírus é um dos fatores que conduz ao *CCD*. O isolamento do país, a monocultura agrícola diferenciada com

rígido controle do uso de agrotóxicos, a ausência de varroa, a proibição da importação de abelhas e produtos apícolas e o clima semiárido da maior parte do país, podem ter contribuído para esse fenômeno (MORTON, 2014). Recentemente, Perry *et al*. (2015), membros da equipe do pesquisador australiano Andrew Barron, publicaram um artigo lançando uma luz sobre os mecanismos de ação do *CCD*. Concluem que:

> Os índices de morte de colônias de abelhas melíferas estão insustentavelmente altos. Enquanto muitos fatores de estresse têm sido identificados que contribuem para esse problema, nós não sabemos por que as colônias transitam tão rapidamente de um estado aparentemente saudável para o colapso. É sabido que as abelhas, individualmente, reagem aos fatores de estresse nutricionais e patogênicos forrageando precocemente: nosso estudo explica como o colapso evolui como uma resposta social da colônia a partir dos fatores de estresse das abelhas, individualmente. Usamos rastreamento via rádio para monitorar o desempenho de abelhas e descobrimos que as abelhas operárias que começam forrageamento prematuramente têm um desempenho muito ruim. Isso agrava os fatores de estresse da colônia e acelera o colapso. Sugerimos como as colônias em risco podem ser identificadas precocemente e as intervenções mais eficazes para prevenir o colapso (PERRY *et al*., 2015; tradução do autor).

No Brasil, o *CCD* foi registrado pela primeira vez por Message (2010), na região de Altinópolis, SP, entre agosto e setembro de 2008 (Fig. 7a) em duas ocorrências com sintomas idênticos ao fenômeno norte-americano. A região é de intensa produção agrícola, predominando a cultura da cana-de-açúcar, com o uso corrente de neonicotinóides e fipronil. As colônias analisadas apresentaram inúmeros patógenos (SANTOS *et al*., 2011; TEIXEIRA *et al*., 2011), parasitas *Varroa destructor* e *Nosema ceranae* (MESSAGE *et al*., 2012). Casos como esses têm sido relatados no sul e sudeste do Brasil (GONÇALVES; CASTILHOS, 2015a, b; PIRES *et al*., 2016) (Figura 7b) e a grande maioria deles estão associados ao uso dos inseticidas neonicotinóides e fipronil (BLACQUIÈRE *et al*., 2016; KRUPKE *et al*., 2012; VANDERSLUIJS *et al*., 2013).

Por outro lado as empresas fabricantes de agrotóxicos se defendem e criam projetos milionários como o projeto global *Bee Care* criado pela Bayer (BAYER BEE CARE, 2018; MCGRATH, 2014) e o projeto *Colmeia Viva*, uma iniciativa da Associação A.B.E.L.H.A., criada pelo Sindiveg (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal) (A.B.E.L.H.A., 2018). Essas entidades tentam convencer a opinião pública que os fatores causadores de mortes e desaparecimento das abelhas não são os agrotóxicos e sim o ácaro *Varroa destructor*, ou o manejo errado das abelhas, ou a negligência ou ignorância dos agricultores que não seguem as recomendações dos fabricantes.

Figura 7 – Registros de *CCD* (colmeias com mel, porém totalmente sem abelhas), *Apis* em Altinópolis, SP (a) e *Melipona* em São Clemente, PR (b)

a)

Fonte: Message, 2008

b)

Fonte: Castilhos, 2016.

Dentro de um contexto nacional, observou-se que o problema do desaparecimento e morte das abelhas assume características diferenciadas em cada região, bioma ou nicho ecológico, ou seja, as causas dos problemas nos estados do Sudeste (MESSAGE, *et al*. 2012, 2015; ROSA *et al*., 2015; SOARES *et al*., 2015) não são exatamente as mesmas dos estados do Sul (BLOCHTEIN, 2015), que por sua vez diferem dos estados do Nordeste (CASTILHOS, 2014; MAIA *et al*, 2015; SILVA *et al*., 2015). Nessa região, devido principalmente às características típicas do clima semiárido nordestino é marcante o efeito da seca que por si só causa anualmente o abandono de colmeias e morte de 50% das colônias de abelhas e não raramente até 90%, como foi o caso da seca de 2012 (CASTILHOS *et al*., 2016) sendo importante a análise de todas as variáveis envolvidas e que podem ser responsáveis pelas ocorrências registradas (GONÇALVES, 2012b).

Para avaliar o impacto causado na apicultura e meliponicultura pelo uso indiscriminado dos inseticidas sistêmicos neonicotinóides e fipronil e o declínio das colônias de abelhas nativas ou manejadas, Gonçalves (2014) lançou o aplicativo *online BEE ALERT*, para o registro de ocorrências de morte massiva e desaparecimento de colônias (*CCD*) de abelhas a nível mundial. Esse banco de dados foi usado para compor a análise desta tese de doutorado levando em conta somente os registros validados a nível nacional.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS

A coleta dos dados foi feita por meio do aplicativo *BEE ALERT*, parte integrante do *website* <http://www.semabelhasemalimento.com.br/beealert>, criado pelos coordenadores da Organização não-governamental de Proteção às Abelhas, *BEE OR NOT TO BE*, registrando *online*, em um banco de dados próprio, cada ocorrência de morte massiva e desaparecimento de abelhas (*CCD*), para monitorar as perdas em escala global (GONÇALVES, 2014).

Os participantes preenchem o questionário hospedado no *website* ou em uma conexão (*link*) hospedada em diferentes *websites*, por exemplo: institutos de pesquisas, laboratórios de referência, associações de apicultores, revistas de apicultura, mídias sociais e outros correlatos (VAN DER ZEE *et al*., 2013).

Quando o participante abre uma ocorrência no aplicativo *BEE ALERT*, esse registro é automaticamente inserido no banco de dados em que informações de localização, espécies de abelhas, possíveis causas, tipos de florada, perdas de colônias, prejuízos estimados, dentre outros são armazenadas e entram no aplicativo conforme o entendimento do participante. Todos os participantes tiveram o anonimato resguardado (BRASIL, 2016; GONÇALVES, 2014).

Foram cadastrados no aplicativo *BEE ALERT* 1.176 participantes sendo que 616 se cadastraram sem preencher os formulários com as informações solicitadas, 313 foram excluídos por apresentarem dados incompletos e os registros internacionais. 247 foram aceitos para contatos posteriores e confirmações de dados, para coleta de amostras de abelhas mortas e análises toxicológicas.

Para os interessados em registrar ocorrências, mas que não são usuários de computador, foi idealizado um questionário impresso (ANEXO II) solicitando as mesmas informações do sistema *online*, dando-se assim a opção de manifestação àqueles que não utilizam os meios digitais. Todas as ocorrências registradas pelos apicultores, meliponicultores e demais colaboradores que utilizaram o aplicativo *BEE ALERT* foram conferidos, confirmados e validados. Para se evitar informações falsas, todos os registros de dados foram reconfirmados mediante contatos com os participantes. Todos os casos com perdas de colônias e prejuízos financeiros foram rastreados e controlados por um moderador do aplicativo *BEE ALERT*.

Para as ocorrências com perdas de colônias mais expressivas foram feitas visitas aos apiários com entrevista aos participantes, confirmação *in loco* da denúncia, com possíveis registros de dados complementares, com fotos, filmagens e coletas de amostras.

Em seguida procedeu-se uma aplicação do controle de qualidade nas ocorrências e os preenchimentos incompletos, não confirmados, ou que não puderam ser rastreados, são excluídos, evitando-se assim a perda de qualidade dos dados.

Durante a fase de coleta de dados foi editada uma macro planilha contendo todas as variáveis extraídas durante a pesquisa, sendo que esses dados permitiram a análise de frequências de ocorrências nas distintas regiões do país, principais causas das mortes ou desaparecimento das abelhas, principais problemas e prejuízos econômicos devido as perdas de colônias e de produção, bem como uma análise de caráter socioambiental dos denunciantes.

A escolha do tamanho da amostra (n) seguiu a metodologia sugerida por Van der Zee *et al*. (2013), considerando um erro padrão de 5% e um nível de confiança de 95%, para uma população apícola nacional estimada em 350.000 apicultores (CBA, 2013; SEBRAE, 2006), o que resultou numa amostra mínima de 246 ocorrências no período analisado.

Para a análise das variáveis quantitativas foram aplicados o teste de Anderson-Darling para normalidade, o teste de Levene para homocedasticidade, teste de proporções e Modelos Lineares Generalizados e Método de Wald (MCCULLAGH; NELDER, 1989; VANENGELSDORP *et al*., 2011, 2013) e análise multivariada Permanova (*Permutational Multivariate Analysis of Variance*) (ANDERSON, 2001, 2005; ANDERSON; WALSH, 2013) para variáveis qualitativas, com 5% de nível de significância, utilizando-se o *software* R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

4.2 ANÁLISE TOXICOLÓGICA

As análises foram feitas no LAEV – Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, do Departamento de Ciências Vegetais da UFERSA usando o método *QuEChERS* (*Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe*) (ANASTASSIADES *et al*., 2003), modificado segundo David *et al*. (2015). As análises foram realizadas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (UHPLC NEXERA X2 – Shimadzu) combinada com espectrometria de massa tipo triplo quadrupolo (LCMS-8040 – Shimadzu).

4.2.1 Analitos e reagentes

A Tabela 5 mostra detalhes químicos dos sete neonicotinóides e do fipronil,

inseticidas mais usados na produção agrícola brasileira. Os padrões dos agrotóxicos, os padrões de calibração interna (*IS*) (clotianidina d_3 e tiametoxam d_3), sulfato de magnésio, acetato de sódio, ácido fórmico, formiato de amônio, Supelclean™ PSA/SPE (*primary, secondary amide*), Discovery® DSC-18/SPE (*C-18 silica gel base material*), acetonitrila grau HPLC e água ultrapura grau HPLC foram adquiridos da Sigma-Aldrich do Brasil Ltda. Todos os compostos têm pureza > 99%.

As soluções de estoque individuais (1mg/mL) dos padrões dos inseticidas e dos padrões internos foram preparadas em acetonitrila (ACN). Os pontos de calibração foram preparados em ACN/H_2O (30:70) a partir da solução de estoque. As soluções foram armazenadas em *freezer* a -25 ºC em câmara escura, protegida da luz. A corrida uma vez iniciada foi executada sem interrupção.

Tabela 5 – Propriedades dos analitos usados na pesquisa

Agrotóxico	CAS #	Massa molar (g/mol)	Coef. part. octan./H_2O (log P_{ow})	Classe Química	Fórmula Química
Acetamipride	135410-20-7	222,67	0,80	Neonicotinóide	$C_{10}H_{11}ClN_4$
Clotianidina	210880-92-5	249,70	0,91	Neonicotinóide	$C_6H_8ClN_5O_2S$
Dinotefuran	165252-70-0	202,21	-0,55	Neonicotinóide	$C_7H_{14}N_4O_3$
Imidaclopride	138261-41-3	255,66	0,57	Neonicotinóide	$C_9H_{10}ClN_5O_2$
Nitenpiram	150824-47-8	270,72	- 0,66	Neonicotinóide	$C_{11}H_{15}ClN_4O_2$
Tiaclopride	111988-49-9	252,72	1,26	Neonicotinóide	$C_{10}H_9ClN_4S$
Tiametoxam	153719-23-4	291,71	- 0,13	Neonicotinóide	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$
Fipronil	120068-37-3	437,15	3,75	Fenilpirazol	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$
Clotianidina d_3	1262776-24-8	252,70	0,91	Padrão interno	$C_6D_3H_5ClN_5O_2S$
Tiametoxam d_3	1294048-82-0	294,73	- 0,13	Padrão interno	$C_8D_3H_7ClN_5O_3S$

Fonte: PPDB, 2016.

4.2.2 Coleta das amostras

Trinta e oito amostras de abelhas com suspeita de contaminação por agrotóxicos foram coletadas durante visitas aos apiários (Anexo III) com kits espátulas/coletores de amostras (50 mL) estéreis, modelo MS-80097810002 (J.Prolab). As coletas foram feitas pelo autor e pelo moderador do aplicativo *Bee Alert,* com o uso de luvas cirúrgicas para evitar a contaminação cruzada. Amostras em decomposição ou secas foram descartadas. As amostras em boas condições de análise foram acondicionadas em freezer a -25 ºC. Não foi estabelecido um tempo máximo para a coleta da amostra. Colônias que apresentavam abelhas agonizando embaixo da colmeia ou no alvado foram preferidas.

Os sintomas das mortes foram: morte massiva no interior das colmeias, no chão abaixo do alvado e colônias que apresentavam redução drástica na população. Para cada amostra foram coletadas entre 100 a 200 abelhas.

4.2.3 Preparação do d-SPE

O método *QuEChERS* modificado é composto de uma extração em água e acetonitrila seguido de uma limpeza em d-SPE (*dispersive solid phase extraction*) usando Supelclean™ PSA/SPE, Discovery® DSC-18/SPE.

O extrato foi homogeneizado e centrifugado, o sobrenadante filtrado em filtro de seringa, evaporado em nitrogênio (N_2) e reconstituído para análise em UHPLC-MS/MS (Anexo IV). Todos os analitos foram preparados em triplicata.

4.2.4 Preparação das amostras

A extração foi efetuada em triplicata, por meio da trituração de 5 abelhas congeladas (-25 ºC). As abelhas foram colocadas em micro tubo de homogeneização com anel de vedação e três esferas de aço 316L; efetuada a maceração a seco durante 3 minutos e 3.000 ciclos por minuto em micro homogeneizador Beadbug, modelo D1030-E.

Uma porção de cada macerado com (~100 mg) foi colocado em novo micro tubo. Foram adicionados 20µL dos padrões internos (*IS*) (Tiam d_3 - 2.500 pg, Clo d_3 - 2.500 pg), água ultrapura (400 µL), homogeneizado por 30 segundos, adicionado ACN padrão HPLC (500 µL), homogeneizado novamente por 30 segundos e agitado em vortex por 10 minutos.

Em seguida foram adicionados 250 mg de sulfato de magnésio ($MgSO_4$)/acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2$) na proporção 4:1, homogeneizado imediatamente por 30 segundos (para facilitar a hidratação do sulfato de magnésio), agitado por 10 minutos e em seguida a amostra foi levada a centrífuga refrigerada (Spinlab, modelo SL-SGR) para separar o precipitado (13.000 g/10 min./20 ^{o}C).

Após a centrifugação foi retirado o sobrenadante com pipeta digital (~ 450 µL) para micro tubo de centrífuga tipo Eppendorf *flip-cap* (2 mL) já contendo 150 mg de $MgSO_4$/PSA/C-18 (1:1:1) para a retirada de resíduos, lipídios, água e pigmentos existentes no extrato. Novamente a amostra foi homogeneizada por 30 segundos (3000 ciclos) e agitada por 10 minutos (300 rpm), filtrada em filtro de seringa de membrana PTFE hidrofílico (0,22 µm, 13 mm) e armazenada em micro tubo tipo Eppendorf (1,5 mL). O volume recuperado (~ 250 µL) foi levado ao freezer a -25 ºC para separar possíveis lipídios ainda contidos na amostra. O volume permaneceu por uma noite nessa temperatura.

Após o registro da não observação da formação de lipídios, o conteúdo foi evaporado em nitrogênio (N_2) e reconstituído em 120 µL de ACN/H_2O (30:70) e transferido para inserto 250 µL, modelo 1125021 - Analítica, acondicionado em vial 2 mL, septo PTFE/silicone, modelo 1T10209111 - Analítica, para injetar. Nos casos em que a formação de lipídios foi observada, a fase líquida foi retirado com seringa de 1 mL e transferida para outro micro tubo para secagem. Foi escolhida a reconstituição da extração em ACN:H_2O (30:70) porque os neonicotinóides e o fipronil não apresentaram problemas de solubilização dos analitos mais hidrofóbicos.

4.2.5 Parâmetros de UHPLC

As amostras foram separadas em coluna cromatográfica UHPLC C-18 (1,6 µm, 2,0 mm x 75 mm) modelo Shim-pack XR-ODS III - Shimadzu. A temperatura da coluna foi mantida a 35 ºC. O volume de injeção foi de 5 µL e a fase móvel foi composta a partir das soluções A (5% ACN, 95% H_2O, 5 mM NH_4HCO_2 – formiato de amônio e 0,1% de HCOOH – ácido fórmico) e B (95% ACN, 5% H_2O, 5 mM NH_4HCO_2 – formiato de amônio e 0,1% de HCOOH – ácido fórmico), em gradiente.

A corrida cromatográfica se iniciou com B a 10% subindo para 30% em 10 minutos, para 100% aos 12 minutos. Manteve-se em 100% até 19 minutos, retornou a 10% aos 19 minutos e 10 segundos e se manteve em 10% por mais 3 minutos e 20 segundos. O tempo total da corrida foi de 22 minutos e 30 segundos.

4.2.6 Parâmetros de espectrometria de massas

A quantificação foi executada em MRM (*multiple reaction monitoring*) usando o modo de ionização ESI (*electron spray injection*) automático, positivo para os neonicotinóides e negativo para o fipronil e duas fragmentações características do íon molecular protonado $[M + H]^+$ ou deprotonado $[M - H]^+$ foram monitoradas.

O potencial de desagrupamento, DP (*declustering potential*) (0-40 V) e a energia de colisão, CE (*collision energy*) (10 - 40 eV) foram otimizadas para cada analito.

As concentrações dos analitos foram determinadas a partir de uma curva de calibração usando-se análise de regressão linear da relação da área do pico versus a razão de concentração (analito nativo para padrão interno). Um número de oito pontos da curva de calibração a (1, 5, 10, 15, 25, 50, 100 e 200 ng/mL em ACN/H_2O (30:70)) foram usados para cobrir a faixa de concentrações observadas em diferentes matrizes para todos os componentes com coeficiente de determinação $R^2 > 0,99$. Os parâmetros de retenção e aquisição no

equipamento foram otimizados para os padrões dos agrotóxicos de interesse e para os padrões internos necessários para a quantificação dos analitos (Tabela 6).

Tabela 6 – Tempos de retenção e parâmetros de aquisição otimizados do UHPLC-MS/MS para os agrotóxicos analisados e os padrões internos

Agrotóxico	*tR* (min)	*Q1* (m/z)	*Q3 (1)* (m/z)
Acetamipride	7,625	203.10	129.20
Clotianidina	5,978	271.10	225.05
Dinotefuran	2,636	295.00	214.15
Imidaclopride	6,591	292.00	211.05
Nitenpiram	3,045	253.00	172.10
Tiaclopride	9,764	250.00	169.10
Tiametoxam	4,680	256.10	209.10
Fipronil	13,985	223.10	126.10
Clotianidina d_3	5,933	253.00	126.10
Tiametoxam d_3	4,651	435.00	329.90

tR = tempo de retenção; *Q1* = relação massa/carga do íon precursor;
Q3(1) = relação massa/carga do íon de quantificação.

4.2.7 Validação do método

Os agrotóxicos identificados na análise foram sete neonicotinóides (acetamipride, clotianidina, dinotefuran, imidaclopride, nitenpiram, tiaclopride, tiametoxam) e um fenilpirazol (fipronil). Foram usados os padrões internos (IS) clotianidina d_3 e tiametoxam d_3.

Os padrões foram diluídos em ACN/H_2O (30:70) a 1, 5, 10, 15, 25, 50, 100 e 200 ng/mL (ppb) para encontrar a equação de regressão linear de calibração dos agrotóxicos recuperados em abelhas controle (sem contaminação) *Apis mellifera*.

4.2.8 Controle de qualidade

As amostras de solventes ACN/H_2O (30:70) foram também injetadas entre os lotes de amostras para se certificar que não houve efeito de transição no sistema do UHPLC que pudessem afetar os resultados seguintes nas corridas das análises.

As identidades dos neonicotinóides e do fipronil foram avaliadas comparando as razões das transições MRM nas amostras e nos padrões puros. O *mix* dos padrões de calibração foi injetado antes e depois de todos os lotes de amostras para monitorar mudanças na sensitividade antes da análise do lote seguinte. As amostras de controle de qualidade (soluções padrões) foram injetadas a cada 10 amostras para monitorar as mudanças de sensitividade durante a análise de cada lote.

4.2.9 Quantificação dos analitos

Os analitos foram quantificados após correção da perda durante a extração, calculada a partir da média dos valores de recuperação dos padrões internos (clotianidina d_3 e tiametoxam d_3) e da massa de macerado de abelhas usada para extração de cada amostra. Os resultados foram expressos na forma de nanogramas de analito por grama de abelha (ng/g).

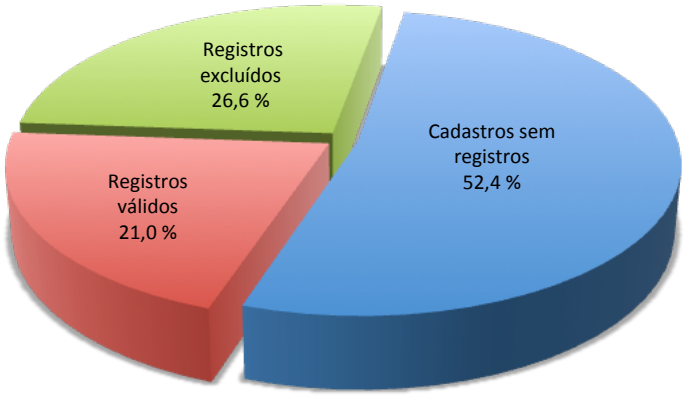
O termo <LD (*limite de detecção*) foi atribuído para as determinações com valor abaixo de três vezes o valor de ruído. Essa faixa de valores é considerada como abaixo do limite de detecção do método, ou seja, considera-se que o analito não foi detectado. O termo (<LQ) (*limite de quantificação*), foi usado para identificar as amostras com valores até três vezes o valor de *MDL* (*Method Detection Limit*). Nesse caso, o resultado foi expresso com o símbolo " < " (menor que) e o valor do limite de quantificação para aquela amostra e analito específico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DOS DADOS

De um total de 1.176 visitantes do aplicativo *BEE ALERT*, 616 (52,4%) não fizeram nenhum registro, 313 (26,6%) foram excluídos e 247 (21,0%) foram validados como participantes amostrais (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Percentual de visitantes cadastrados, de participantes válidos e participantes excluídos da amostra

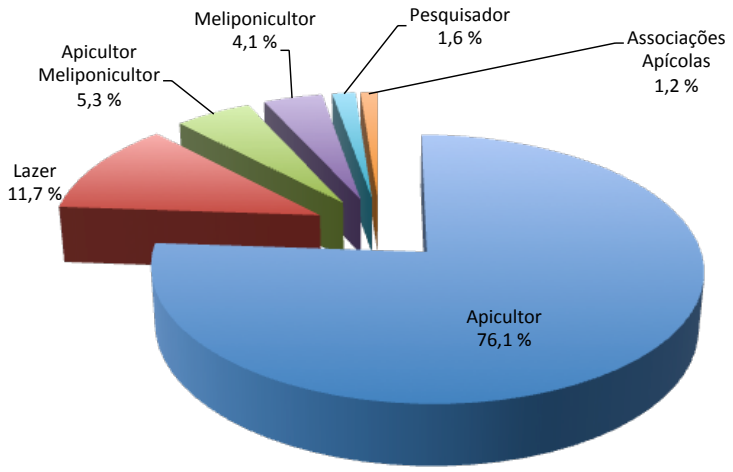


Fonte: dados da pesquisa.

Dentre os participantes que efetuaram algum tipo de registro foram excluídos da amostra os registros em que uma ou mais das 18 variáveis das ocorrências estivessem incompletas, os registros internacionais, uma vez que não fazem parte dos objetivos desta tese, os registros errados, os registros com perdas maiores que 100,0%, os registros sem perdas, os registros sem confirmação posterior e os registros em duplicidade, de acordo com De Leeuw (2008), totalizando 313 participantes que não confirmaram uma ou mais condições de validação, representando 55,9% dos registros, o que não apresentou diferença ($p = 0,5872$) do percentual obtido por Millar; Dillman (2011) de 57,7% para este tipo de pesquisa (questionário voluntário via internet).

Seis tipos de atividades apícolas foram informadas durante o processo de aquisição de dados. Notou-se uma predominância da apicultura sobre as demais atividades, seguida da atividade apícola como lazer, entretanto pesquisadores e associações apícolas tiveram pequena participação nos registros de ocorrências (Gráfico 2).

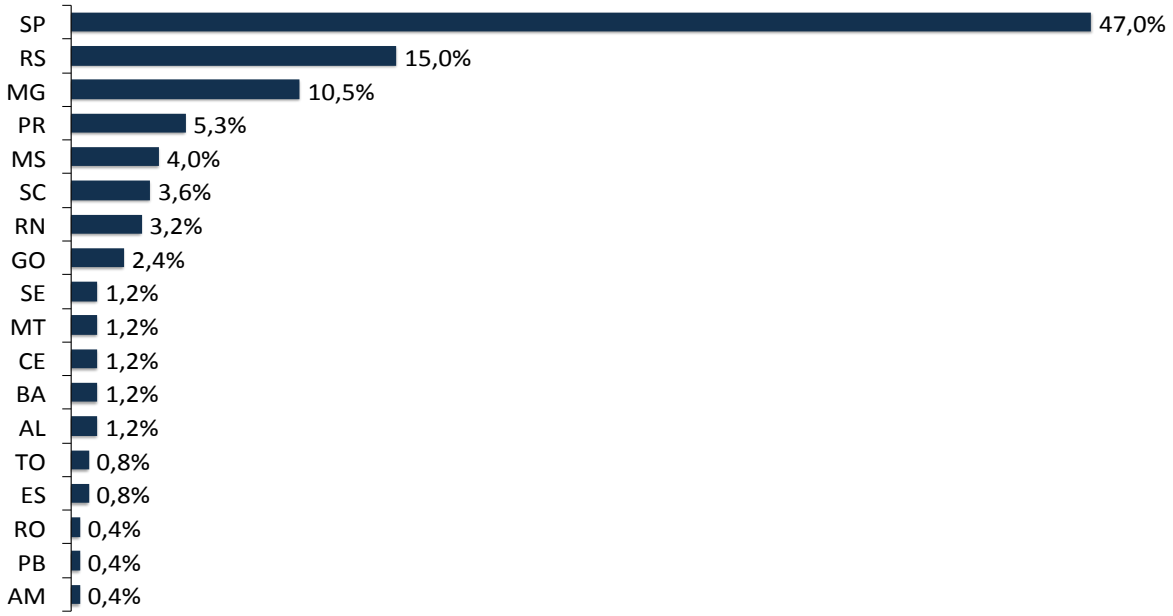
Gráfico 2 – Percentuais dos registros de ocorrências válidos por atividade apícola



Fonte: dados da pesquisa.

Das 27 unidades federativas, 18 (67%) reportaram pelo menos uma ocorrência de perdas de colônias de abelhas, africanizadas ou nativas, desde o lançamento do aplicativo *BEE ALERT* na internet. Nota-se nitidamente a liderança do estado de São Paulo quanto ao número de respostas, com 47,0% dos registros válidos para a pesquisa. Outros estados como Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso do Sul também tiveram destaque na pesquisa. Oito estados e o Distrito Federal não apresentaram participação na pesquisa (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Percentuais dos registros válidos para a pesquisa efetuados por estado

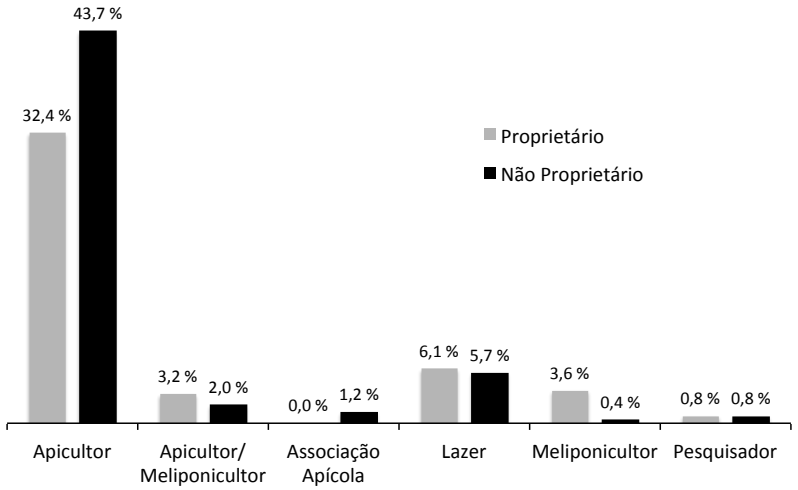


Fonte: dados da pesquisa.

Malaspina *et al*. (2008), já citavam esses estados com ocorrências de mortes de abelhas por contaminação com neonicotinóides, inclusive com confirmação analítica por cromatografia liquida e espectrometria de massa (*LC/MS*). Mais recentemente, Malaspina (2014), publicou relatório sobre mais mortes de abelhas por agrotóxicos no país, enfatizando os mesmos estados como recordistas nas ocorrências de mortes de abelhas (UNESP; UFSCAR, 2018).

A variável que inferiu sobre a posse das propriedades em que os participantes da pesquisa praticam suas atividades apícolas (Gráfico 4), mostrou que os não proprietários arrendam terras de fazendeiros e sitiantes da região mediante acordos ou em troca de cotas de mel a serem pagas no final da safra, ou então ocupam APP's (Áreas de Preservação Permanente) ou APA's (Áreas de Proteção Ambiental), remanescentes de matas nativas nas encostas e vales, principalmente nas partes não agriculturáveis das regiões de monocultura agrícola intensiva (53,9%). O restante (46,1%) são proprietários das terras onde praticam a atividade apícola.

Gráfico 4 – Posse das propriedades em que os participantes da pesquisa exercem a atividade apícola



Fonte: dados da pesquisa.

Quanto ao método de produção da atividade apícola, se fixa ou migratória, verificou-se uma predominância do método fixo em todas as atividades (85,8%). O restante (14,2%) complementa a totalidade dos apicultores pesquisados com o método apicultura migratória (Tabela 7).

Tabela 7 – Método de produção da atividade apícola dos participantes da pesquisa

Atividade	Método				
	Fixa	%	Migratória	%	Total
Apicultura	158	84,0	30	16,0	188
Apicultura/Meliponicultura	12	92,3	1	8,7	13
Associação Apícola	3	100,0	0	0,0	3
Lazer (*hobby*)	26	89,7	3	10,3	29
Meliponicultura	10	100,0	0	0,0	10
Pesquisa	3	75,0	1	25,0	4
Total	212	85,8	35	14,2	247

Fonte: dados da pesquisa.

Quanto ao pasto apícola, as respostas foram muito variadas e plurais. Seis grupos foram formados conforme a produção agrícola e as características ambientais das regiões reportadas. As respostas dos participantes foram múltiplas (Tabela 8):

1- **frutas tropicais**: abacate (*Persea americana*), abacaxi (*Ananas comosus*), banana (*Musa spp.*), bergamota (*Citrus bergamia*), caju (*Anacardium occidentale*), castanha (*Castanea spp.*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), goiaba (*Psidium guajava*), graviola (*Annona muricata*), jabuticaba (*Plinia cauliflora*), mamão (*Carica papaya*), manga (*Mangifera indica*), maracujá (*Passiflora edulis*)

2- **gramíneas**: braquiária (*Brachiaria spp.*), pastagem, pasto (*Cynodon spp.*), sorgo (*Sorghum bicolor*)

3- **mata nativa**: alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), angico (*Anadenanthera spp.*), aroeira (*Astronium faxinifolium*, *Lithraea molleoides*, *Myracrodruon urundeuva*, *Schinus terebinthifolius*), arranha-gato (*Acacia plumosa*), assa-peixe (*Vernonia polysphaera*), bosque, capixinguí (*Croton floribundus*), carqueja (*Baccharis trimera*), cipó-uva (*Cissus rhombifolia*), ervas daninhas, flores do campo, flores silvestres, ingá (*Inga spp.*), jurema (*Mimosa spp.*), juazeiro (*Ziziphus joazeiro*), marmeleiro (*Cydonia oblonga*), monjoleiro (*Senegalia polyphylla*), plantas rasteiras e vassoura, vassourinha, vassourão branco (*Sida spp.*)

4- **monoculturas**: algodão (*Gossypium spp.*), arroz (*Oryza spp.*), aveia (*Avena spp.*), café (*Coffea spp.*), cana-de-açucar (*Saccharum spp.*), eucalipto (*Eucalyptus spp.*), fumo (*Nicotiana spp.*), laranja (*Citrus sinensis*), limão (*Citrus limonum*), maçã (*Malus spp.*), melão (*Cucumis melo*), milho e milho transgênico (*Zea mays*), nabo (*Brassica rapa*), nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), soja (*Glycine spp.*), uva (*Vitis spp.*), uva-japonesa (*Hovenia dulcis*)

5- **não identificado**

6- **zona urbana**: árvores urbanas e de rua, flores de jardim, jardins, pomares, praças

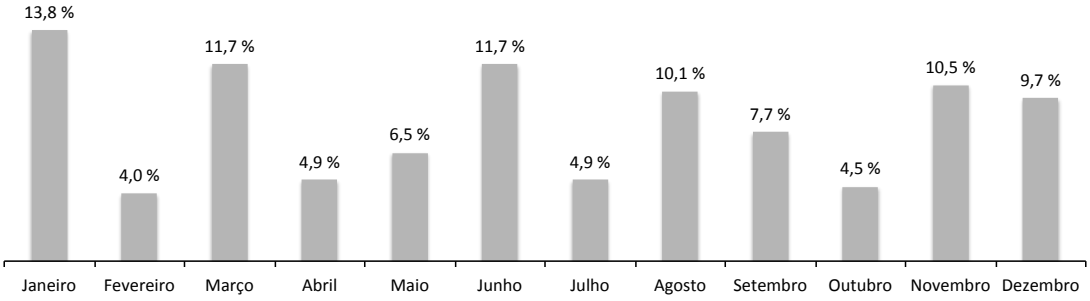
Tabela 8 – Pasto apícola agrupado de acordo com as características ambientais da região

Grupos	*nr*	%
Frutas tropicais	18	5,4
Gramíneas	10	3,0
Mata Nativa	159	47,7
Monoculturas	126	37,8
Não identificado	10	3,0
Zona urbana	10	3,0
Total	333	100,0

nr = número de registros válidos
Fonte: dados da pesquisa.

Ao avaliar a incidência de mortes de colônias em função do mês de ocorrência, verificou-se que os meses com maiores perdas de colônias (janeiro, março, junho, agosto, novembro e dezembro) são aqueles que coincidem com o período de preparo da terra, plantio e colheita da produção agrícola intensiva (Gráfico 5). Não foi registrado um único mês sem perdas.

Gráfico 5 – Acumulado de perdas mensais de colônias, considerando o período de 2013 a 2016



Fonte: dados da pesquisa.

Devido às características tropicais do Brasil, foi observado que as perdas se mantêm ao longo de todos os meses do ano podendo-se considerar então que não existe razão para admitirmos diferenças nas perdas entre inverno e verão.

Quanto às espécies perdidas, verificou-se que 81,5% foram perdas de colônias de abelhas do gênero *Apis* (mais especificamente as abelhas poli-híbridas africanizadas *Apis*

mellifera), 13,7% foram perdas de colônias do gênero *Melipona* (*Tetragonisca angustula*), 1,8% de mamangavas (*Bombus spp. e Xylocopa spp.*) e 3,0 % de abelhas solitárias (*Centris spp*., *Eulaema spp*., *Tetrapedia spp*., *Eufriesea spp*., etc.). Cerqueira e Figueiredo (2017) analisando somente apicultores da mesorregião de Araraquara, centro-oeste do estado de São Paulo, encontraram que 88,5% dos apicultores analisados já tiveram pelo menos uma perda por pulverização de agrotóxicos nas lavouras vizinhas aos apiários.

Na análise das ocorrências quanto as causas das perdas reportadas, em 220 (89,1%) das respostas foram citados os agrotóxicos como causa das mortes, incluídas as 6 perdas devido ao fumacê (serviço municipal de combate ao mosquito *Aedes aegypt*), em 8 (3,2%) foram citadas as falhas no manejo, 5 (2%) foram citados o uso de acaricidas e 14 (5,7%) não souberam responder.

Na comparação entre o total de registros de perdas e as perdas somente por agrotóxicos (p = 0,0105), se agruparmos os registros com perdas de 1 a 50 colônias (183) teremos que 157 (85,8%) foram devido aos agrotóxicos e 26 (14,2%) foram devido a outras causas. Já para um grupo de registros com perdas maiores que 50 colônias (64) teremos que 63 (98,4%) foram devidas aos agrotóxicos e somente uma (1,6%) foram devido a outras causas. Portanto, qualquer que seja o nível de perdas, se de 1 a 50 ou mais de 50 colônias, o efeito do uso dos agrotóxicos oscilou entre 85,8 e 98,4%, o que é extremamente prejudicial para as abelhas e apicultores (Tabela 9).

Tabela 9 – Relação entre as ocorrências e as causas das perdas

Total de colônias perdidas	Ocorrências e suas causas				
	Agrotóxicos	(%)	Outras causas	(%)	Total
1 a 50	157	85,8	26	14,2	183
> 50	63	98,4	1	1,6	64
Total	220	89,1	27	10,9	247

Fonte: dados da pesquisa.

No quesito pulverização, 60,3% dos participantes afirmaram ter sido vítimas de pulverização aérea, 29,2% de pulverização mecânica, 2,0% de pulverização manual e 8,5% não souberam especificar. Os agrotóxicos citados como mais usados e que segundo os participantes colaboradores foram os causadores das mortes e desaparecimentos das colônias de abelhas foram condensados em 5 grupos químicos incluídos na Tabela 10, sendo mais frequentes os inseticidas sistêmicos como os neonicotinóides e o fipronil.

Tabela 10 – Agrotóxicos reportados na pesquisa e seus grupos químicos

Grupos químicos	*Nomes comerciais reportados*	%
Inseticidas sistêmicos	neonicotinóides, fipronil, imidaclopride, tiametoxam, Actara, Regente, Clap, Gaucho,	37,7
Inseticidas não sistêmicos	organoclorados, organofosforados, carbamatos, Colosso, Karatê, Malathion, Amitraz, Avermectina, Altacor, Abamectina	12,3
Herbicida	glifosato, Roundup, Tordon, 2.4-D, Aurora, Gamit	13,4
Fungicida	fungicida, Ópera, Azimut	0,7
Acaricida/Carrapaticida	acaricida, Ivomec, ivermectina, carrapaticida	0,7
Não identificados		35,2
Total		100,0

Fonte: dados da pesquisa.

Esse agrupamento das respostas deve-se ao excessivo número de variedades de produtos no mercado e também pelo modo como os usuários se referem a eles, citando-os pelo princípio ativo, marca, grupo químico, apelido, dentre outros. As respostas dos participantes que não souberam precisar as causas das mortes das abelhas tiveram um peso percentual tão grande quanto os que afirmaram ter sido vítimas dos inseticidas sistêmicos.

Dentre as variáveis obtidas a partir das amostras coletadas tiveram necessariamente posição de destaque as variáveis contínuas, *tc* (número de colônias saudáveis antes da ocorrência) e *td* (número de colônias mortas ou desaparecidas após a ocorrência). Essas variáveis não apresentaram condição de normalidade ($p < 0,0001$) (Tabela 11).

Tabela 11 – Total, mediana, média e teste de normalidade para as variáveis *tc* e *td*

Variável	Total	Mediana	(Interquartil)	Média	(95 % *IC*)	p
tc	27.858	30	(14,5 – 87,5)	112,8	(81,7 – 143,8)	< 0,0001
td	14.531	20	(6,0 – 54,5)	58,8	(40,9 – 76,8)	< 0,0001

Fonte: dados da pesquisa.
tc = número total de colônias saudáveis antes da ocorrência; *td* = número de colônias que morreram na ocorrência;
p = significância pelo teste de Anderson-Darling.

Existem duas maneiras para se calcular as perdas de colônias. A primeira é a perda total de colônias (*PT*), que representa as perdas totais sofridas por todos os participantes. A segunda é a perda média de colônias (*PM*), que representa a média das perdas sofridas por cada um dos participantes (VANENGELSDORP *et al*., 2011, 2013). Apesar de extremamente úteis, esses dados são também muito tendenciosos. Isso pode ocorrer em regiões onde a apicultura comercial prevalece sobre a apicultura familiar; perda total (*PT*) é mais

influenciada por grandes números enquanto que perda média (*PM*) é mais representativa para todas as operações apícolas (DABERKOW *et al*., 2009).

Desse modo seguem as equações:

$$PT\,(\%) = (td/tc)\,.100\%,$$

$$PM\,(\%) = \sum_i^n (PTi)/n,$$

em que: *td* = número de colônias que morreram na ocorrência, *tc* = número total de colônias saudáveis antes da ocorrência, PT_i = perdas por ocorrência válida e *n* = número de ocorrências válidas.

Anualmente, o número de respostas usadas para calcular perdas totais (*PT*) perdas médias (*PM*) com seus intervalos de confiança foi maior que 60, o que permite supor que a amostra é normal (distribuição Z), exceto em 2013. Nesse caso, uma distribuição normal não pode ser atribuída a *PT* e *PM*, então uma distribuição *t* deve ser escolhida com base no número de graus de liberdade dos dados (nr-1) (PAOLI *et al*., 2002). vanEngelsdorp *et al*. (2011) diz que "esta estimativa pode ser um pouco tendenciosa se a distribuição do número de colônias por entrevistado for assimétrica, já que cada respondente recebe o mesmo peso na perda média resultante (*PM*), independentemente do número de colônias possuídas".

Para minimizar os efeitos causados pelo peso que cada atividade apícola exerce sobre as perdas totais (*PT*), por participante de ocorrências registradas no Bee Alert, utilizou-se o modelo estatístico *GLM* (*Generalized Linear Model*) *quasi-binomial* com função de ligação *logit* para calcular seus intervalos de confiança. Para as perdas médias (*PM*) utilizou-se o método de Wald (VANENGELSDORP *et al*., 2013).

As perdas anuais, por participante de ocorrências, do período e seus intervalos de confiança não mostraram diferenças significativas confirmadas pelas interseções dos limites mínimos e máximos do intervalo de confiança (Tabela 12).

Tabela 12 – Perdas anuais e no período e seus intervalos de confiança

Ano	$PT_{(\%)}$	95% $IC_{(glm)}$	$PM_{(\%)}$	95% $IC_{(Wald)}$
2013	50,4	39,5 – 61,4	54,9	39,3 – 70,6
2014	55,6	48,6 – 62,4	59,7	52,6 – 66,8
2015	54,4	45,6 – 63,0	66,6	57,7 – 75,5
2016	45,8	40,1 – 51,6	63,1	56,7 – 69,5
2013 - 2016	52,2	48,3 – 56,0	62,0	57,9 – 66,1

PT = perda total; *PM* = perda média; 95% IC = intervalo de confiança.

Na contabilização das colônias de abelhas mortas e desaparecidas registradas como ocorrências no aplicativo *BEE ALERT*, entre 01 de janeiro de 2013 e 31 de dezembro de 2016, para um número de 27.858 colônias sadias antes das ocorrências (*tc*), contabilizamos perdas de 14.531 colônias (*td*) sendo 12.831 de *Apis* (88%), 1.642 de *Melipona* (11%), 38 de *Bombus spp*. e *Xylocopa spp*. e 20 de solitárias (*Centris spp*., *Eulaema spp*., *Tetrapedia spp*., *Eufriesea spp*., etc.). Isso representa uma amostragem pequena, muito aquém da realidade, face à alta resistência dos apicultores e meliponicultores em denunciarem suas perdas.

Estimando-se uma população média de 60.000 abelhas *Apis* por colônia, 1.000 abelhas *Melipona*, 200 abelhas *Bombus/Xylocopa* e 200 abelhas solitárias (*Centris spp*., *Eulaema spp*., *Tetrapedia spp*., *Eufriesea spp*., etc.) por ninho, calculamos que em um período de quarenta e oito meses de registros morreram mais de 770 milhões de abelhas, o que representa uma perda de biodiversidade e um enorme prejuízo financeiro, até mesmo irrecuperável, para os apicultores e meliponicultores nacionais.

Esta pesquisa deixa claro que a amostragem utilizada não abrange as colônias de abelhas da natureza e portanto não representa uma estimativa sobre a perda de abelhas silvestres no Brasil. É importante também ser dito que uma significativa parte dos apicultores e meliponicultores que perderam suas colônias não registraram ocorrências públicas em órgãos oficiais por receio de perderem a autorização para o uso das terras onde colocam suas abelhas.

Estratificando-se as variáveis por seus respectivos estados, verificou-se que essas subamostras também não apresentaram normalidade e homocedasticidade. Alguns estados, apresentaram número de registros muito pequeno ($nr_{estado} \leq 8$), inviabilizando as análises.

Para melhor entender o tratamento das variáveis decidiu-se agrupá-las por regiões, conforme o mapa de divisão política do Brasil. Os grupos foram divididos da seguinte maneira: Centro-Oeste, Norte/Nordeste, Sudeste e Sul (Figura 8 e Tabela 13).

Figura 8 – Distribuição georreferenciada das perdas de colônias no Brasil

Linha amarela = divisa internacional; linha preta = divisa regional; linha branca = divisa estadual
Fonte: Base cartográfica GOOGLE EARTH, 2017; modificado pelo autor com dados da pesquisa.

Constatamos que do total de ocorrências registradas (247) a maior frequência deu-se no Sudeste (144 ou 58,3%) seguida das ocorrências no Sul (59 ou 23,9%), Norte/Nordeste (25 ou 10,1%)e Centro-Oeste (19 ou 7,7%) , sendo que as perdas totais de colônias (*PT*) oscilaram entre 47,1% no Sudeste e 62,4% no Sul do país e apesar das perdas totais e médias das regiões serem diferentes, os intervalos de confiança mostram uma sobreposição de valores, o que pressupõe a não existência de uma diferença quanto aos percentuais entre regiões (Tabela 13).

Tabela 13 – Ocorrências, perda total (*PT*) e perda média (*PM*) por região e seus intervalos de confiança

Região	*nr*	(%)	$PT_{(\%)}$	95% $IC_{(glm)}$	$PM_{(\%)}$	95% $IC_{(Wald)}$
Centro-Oeste	19	(7,7)	61,7	45,5 – 76,3	49,7	34,9 – 64,5
Norte/Nordeste	25	(10,1)	55,0	43,0 – 66,6	54,9	42,5 – 67,3
Sudeste	144	(58,3)	47,1	42,3 – 51,9	62,3	56,7 – 67,9
Sul	59	(23,9)	62,4	54,1 – 70,2	68,3	61,0 – 75,7
Total	247	(100,0)	52,2	48,3 – 56,0	62,0	57,9 – 66,1

nr = número de respostas válidas ou ocorrências.

Durante o processo de contaminação das abelhas é importante coletar dados de perdas parciais, ou redução, de colônias para se ter uma ideia da tendência das perdas totais e perdas médias durante o período de contaminação desses insetos (VAN DER ZEE *et al.*, 2013). Os autores sugerem uma contagem escalonada com perdas múltiplas de 25%, em quatro níveis, além da contagem inicial em outubro, considerada o marco zero antes do inverno no hemisfério norte. Por efeitos práticos e mais eficazes dentro da nossa pesquisa, escalonamos as perdas em quatro níveis da seguinte maneira: redução em 30%, redução em 60%, perda total da população da colônia (*td*) e marco zero (*tc*) (Tabela 14).

Tabela 14 – Número de colônias (N) e seus percentuais com reduções de 30 e 60% e perda total por região

	$R_{(30\%)}$		$R_{(60\%)}$		$R_{(100\%)} = td$		*tc*
Região	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N
Centro-Oeste	35	(2,0)	227	(13,2)	1.110	(61,7)	1.799
Norte/Nordeste	70	(4,8)	94	(6,5)	801	(55,0)	1.456
Sudeste	138	(0,8)	907	(5,1)	8.387	(47,1)	17.817
Sul	239	(3,5)	265	(3,9)	4.233	(62,4)	6.786
Total	482	(1,7)	1.493	(5,4)	14.531	(52,2)	27.858

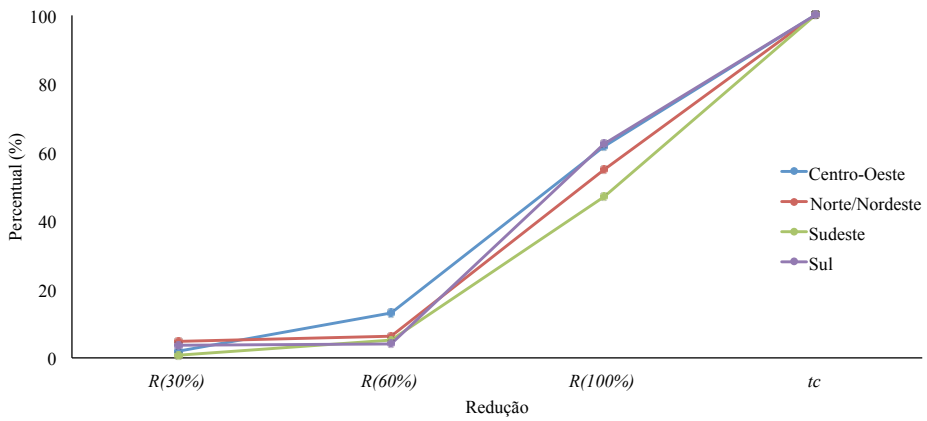
$R_{(30\%)}$ = número de colônias com redução da população em 30%; $R_{(60\%)}$ = número de colônias com redução da população em 60%; $R_{(100\%)} = td$ = número de colônias com perda total da população; *tc* = número total de colônias saudáveis antes da ocorrência.

A redução do volume dos enxames e sua associação à síndrome do desaparecimento das colônias (*CCD*) quanto ao mecanismo de agregação (ALLEE, 1927) é consequência de variáveis estressoras como fatores ambientais (mudanças climáticas, recursos florais e compostos xenobióticos como os agrotóxicos), espécies invasoras (predadores, parasitas e patógenos) e processos antrópicos (seleções genéticas e vitalidade, migração

sazonal, regulação das reservas de mel), dentre outros (DENNIS; KEMP, 2016; HENRY *et al*., 2016).

Apesar dos poucos pontos da curva (Gráfico 6) que representa o percentual de redução da população, observa-se uma tendência de evolução dessas reduções seguindo um modelo de crescimento logístico (FLORENTINO *et al*., 2010; HENRY *et al*., 2016), para os níveis de reduções $R_{(30\%)}$, $R_{(60\%)}$, $R_{(100\%)}$ (total de colônias perdidas = *td*) e a carga máxima de perda de colônias possíveis para cada registro (*tc*). Essa tendência comporta-se de maneira semelhante nas regiões geográficas pesquisadas.

Gráfico 6 – Reduções na população de colônias por região



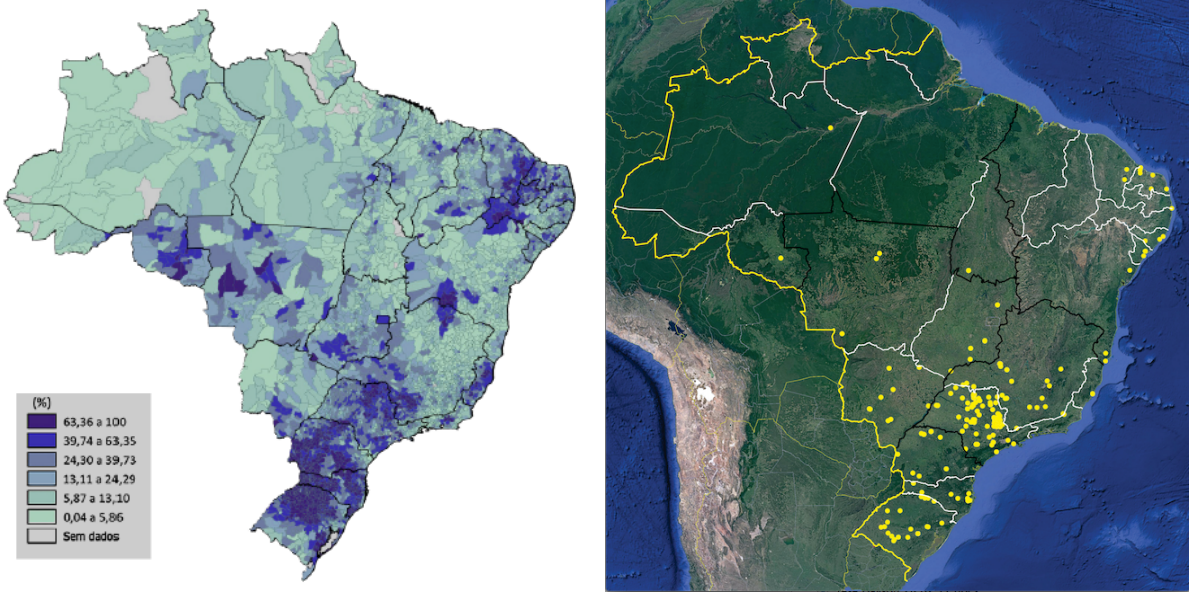
Fonte: dados da pesquisa

Os eventos de reduções na população das colônias podem anteceder ocorrências de *CCD* ou morte massiva, indicadores de que as colônias dificilmente escapam de uma contaminação letal em situações reais de campo e que contaminações subletais se tornam letais pelo acúmulo de agrotóxicos no organismo, por ingestão ou por contato, em função do tempo de exposição (TENNEKES, 2012).

Estudos sobre os agrotóxicos e seus efeitos em biomas e biotas conduzem a resultados semelhantes aos nossos mesmo que as pesquisas trilhem por caminhos diferentes. Bombardi (2016, 2017) pesquisando os efeitos dos agrotóxicos nos seres humanos em função da localização geográfica, elaborou vários mapas sobre o uso dos agrotóxicos no país (Figura 9a) e concluiu que os estados que mais utilizam e sofrem as consequências negativas desses compostos coincidem exatamente com os resultados da nossa pesquisa (Figura 9b).

Figura 9 – Percentual da utilização de agrotóxicos em relação ao número total de agroindústrias por município (a), comparado aos registros do *Bee Alert* (b)

a) b)



Fonte: a) BOMBARDI, (2017). Departamento de Geografia - FFLCH - USP São Paulo Software cartográfico: Philcarto (philcarto.free.fr), base cartográfica: IBGE (2006); b) Base cartográfica GOOGLE EARTH, 2017, modificado pelo autor com dados da pesquisa.

Carneiro *et al*. (2015), comentando o cenário acima em revisão anterior diziam:

> Nota-se neste mapa que as maiores concentrações de utilização de agrotóxicos coincidem com as regiões de maior intensidade de monoculturas de soja, milho, cana, cítricos, algodão e arroz. Mato Grosso é o maior consumidor de agrotóxicos, representando 18,9% do consumo nacional, seguido de São Paulo (14,5%), Paraná (14,3%), Rio Grande do Sul (10,8%), Minas Gerais (9,0%) e Goiás (8,8%) (CARNEIRO *et al*., 2015)

O IBAMA (2014), em sua consolidação de dados fornecidos pelas empresas que registram entradas e saídas de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme artigo 41, do decreto 4.074 de 4 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002), reportou que em 2014 os 6 estados recordistas em vendas de agrotóxicos foram Mato Grosso (18,0%), São Paulo (14,4%), Paraná (11,4%), Rio Grande do Sul (11,5%), Goiás (8,8%) e Minas Gerais (6,6%).

O INPEV – Instituto Nacional de Processamento de Embalagens Vazias, órgão não governamental e sem fins lucrativos que recolhe embalagens de agrotóxicos em todo o Brasil para reciclagem e reaproveitamento, registra em seu Relatório de Sustentabilidade 2015 que os 7 primeiros estados a recolher mais embalagens de agrotóxicos são o Mato Grosso (22,8%), Paraná (13,4%), São Paulo (13,0%), Rio Grande do Sul (10,7%), Goiás (10,2%), Mato Grosso do Sul (7,7%) e Minas Gerais (7,6%) (INPEV, 2015).

Na análise das perdas de colônias segundo o aplicativo BEE ALERT por estado, São Paulo perdeu o maior número de colônias em números absolutos (7.348), representando

uma perda total (*PT*) de 46,3%; o estado do Rio Grande do Sul perdeu 1.515, representando 58,7%; o estado do Paraná teve a maior perda de melíponas (*Tetragonisca angustula*), popularmente conhecida por abelha jataí (1.508 colônias). O fato dessa enorme perda de colônias de melíponas no Paraná foi lamentado pelos participantes da pesquisa local, que relataram as dificuldades de fiscalização, o uso de agrotóxicos falsificados e contrabandeados através da tríplice fronteira, Argentina, Brasil e Paraguai, (ENFISA, 2015). As perdas de *Apis mellifera* (1.043 colônias) também foram expressivas nesse estado.

Minas Gerais também teve perda significativa; foram registradas 1.037 colônias perdidas e sua perda total (*PT*) calculada foi de 53,4%.

Os estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, individualmente, apresentaram um número de registros insuficientes ($nr_{estado} \leq 10$), por isso não foram apresentados seus resultados de perda total percentual (*PT*), mas Carneiro *et al*. (2015) apontam esses estados como grandes consumidores de agrotóxicos no país, sendo o estado do Mato Grosso líder no consumo nacional.

Para se entender melhor o conceito de perda total (*PT*) e perda média (*PM*) (DABERKOW *et al*., 2009) a amostra foi dividida por grupos de participantes quanto ao número de colônias, de 1 a 50, de 51 a 200 e acima de 200 colônias (Tabela 15). Esta divisão caracteriza o tamanho da operação apícola, se pequena, média ou grande respectivamente.

Tabela 15 – Perda total e perda média pelo tamanho da operação

Operação	*nr*	*tc*	*td*	$PT_{(\%)}$	95% $IC_{(glm)}$	$PM_{(\%)}$	95% $IC_{(Wald)}$
1 - 50	161	3.236	2.128	65,8	60,5 – 70,8	65,0	59,9 – 70,1
51 - 200	56	6.112	3.922	64,2	55,8 – 72,0	63,0	54,9 – 71,2
> 200	30	18.510	8.481	45,8	35,7 – 56,2	44,2	33,5 – 54,9
Total	247	27.858	14.531	52,2	48,3 – 56,0	62,0	57,9 – 66,1

nr = número de registros válidos; *tc* = número total de colônias saudáveis antes da ocorrência;
td = número de colônias que morreram na ocorrência; $PT_{(\%)}$ = perda total; $PM_{(\%)}$ = perda média; IC = intervalo de confiança
Fonte: dados da pesquisa.

Na análise das perdas quanto ao tamanho da operação apícola constatou-se que pequenos e médios apicultores e meliponicultores sofrem semelhantes percentuais de perdas médias, já os grandes apicultores e meliponicultores sofrem menores perdas, confirmado pela comparação dos intervalos de confiança (BRODSCHNEIDER *et al*., 2016; VANENGELSDORP *et al*., 2011).

Uma análise de variância multivariada *PERMANOVA* (*Permutational Multivariate Analysis of Variance*) testou as interações entre as variáveis independentes e

covariáveis, qualitativas e quantitativas definindo o tamanho de seus efeitos sobre a variável dependente, com nível de significância de 5% (Tabela 16).

Tabela 16 – Resultado da análise *PERMANOVA*

Variável	g.l.	SQ	QM	F	r^2	Pr (>F)
Região	3	27.838	9.279	2,13	0,00553	0,1066
Mês	11	75.623	6.875	1,58	0,01503	0,1202
Latitude	1	48.154	48.154	11,04	0,00957	0,0030
Longitude	1	19.054	19.054	4,37	0,00379	0,0398
Atividade	5	1.473.728	294.746	67,56	0,29293	0,0001
Abelhas	5	108.528	21.706	4,97	0,02157	0,0417
Tipo	1	155.677	155.677	35,68	0,03094	0,0001
tc	1	2.134.923	2.134.923	489,32	0,42435	0,0001
Causas	7	32.708	4.673	1,07	0,00650	0,2849
Agrotóxicos	6	29.525	4.921	1,13	0,00587	0,2811
Aplicação	3	1.587	529	0,12	0,00032	0,9249
Culturas	5	30.378	6.076	1,39	0,00604	0,2375
Pasto Apícola	10	77.440	7.744	1,77	0,01539	0,1362
Resíduos	187	815.882	4.363		0,16217	
Total	246	5.031.045			1,00000	

g.l. = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio; F = estatística pseudo-F;
r^2 = tamanho do efeito; Pr (>F) = valor de p
Fonte: dados da pesquisa.

Com base na análise *PERMANOVA* os efeitos das variáveis de maior influência no resultado da pesquisa foram *tc* (42,4%; p = 0,0001), atividade (29,3%; p = 0,0001), tipo (3,1%; p = 0,0001), abelhas (2,2%; p = 0,0417), latitude (1,0%; p = 0,003) e longitude (0,4%; p = 0,0398) no processo de morte de colônias de abelhas. As variáveis causas (das mortes) e agrotóxicos (classes) não se mostraram representativas nessa análise pois a comparação da abundância das perdas nesses fatores não estavam equitativamente distribuídas para os níveis registrados (Tabela 9).

Quanto ao prejuízo financeiro reportado pelos participantes, cada um estimou seu prejuízo livremente. Alguns reportaram somente o valor das colônias perdidas baseados no preço de mercado, caso fossem comprar novas colônias. Outros reportaram colônias mais produção de mel; outros reportaram colônias mais produção de mel mais perdas com polinização das culturas agrícolas e por fim outros reportaram os itens acima mais lucros cessantes. Nenhum participante entrevistado mencionou como prejuízo a colmeia e seus acessórios. Isso pode ser entendido como um indicativo de que pretendem reutilizar esses equipamentos. Nesse cômputo o prejuízo médio estimado por participante foi de R$ 26.286,00 e o prejuízo médio por colônia perdida foi de R$ 447,00. Portanto, as 12.831

colônias de *Apis mellifera* perdidas e registradas no aplicativo *Bee Alert*, ao custo médio de R$ 447,00 correspondem a um prejuízo total de R$ 5.735.457,00.

O uso indiscriminado dos agrotóxicos na agricultura intensiva e na monocultura agrícola foi identificado como a principal causa de mortes de abelhas e prejuízos para a apicultura e meliponicultura em todos os níveis de produção, seja ela por lazer, pequena produção familiar, produção comercial ou pesquisa, comprovando que essas perdas representam um importante impacto para todos os grupos analisados (CARNEIRO *et al*., 2015; FREITAS; PINHEIRO, 2012; ROCHA, 2012).

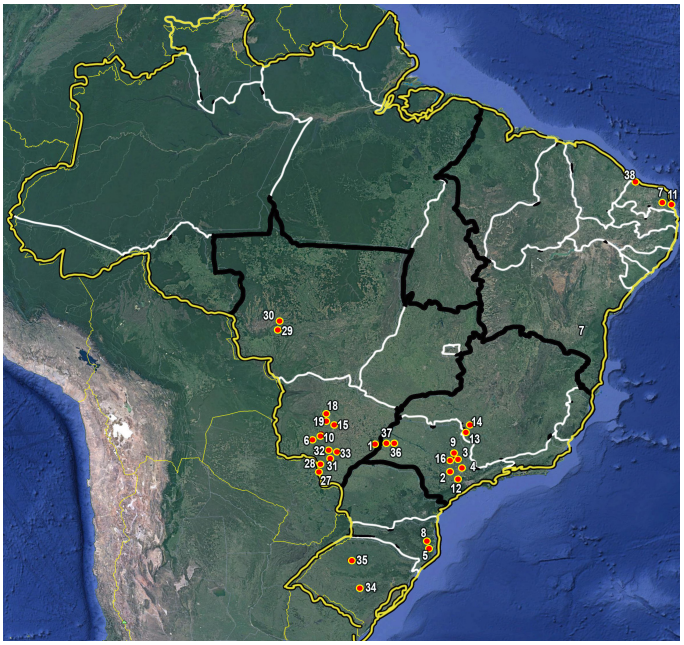
Com base nos relatos dos apicultores e no conhecimento ambiental é plausível que os agrotóxicos sejam a principal causa das perdas de colônias, paralelamente à confirmação de que o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (INCA, 2015).

Não há dúvida que a estatística apresentada pelas ocorrências registradas no aplicativo *BEE ALERT* significa uma subestimativa da realidade brasileira quanto aos efeitos prejudiciais dos agrotóxicos, entretanto, representa um alerta sobre um crime contra as abelhas e o meio ambiente (GONÇALVES, 2017).

5.2 ANÁLISE TOXICOLÓGICA

Este estudo mostrou que as 38 amostras coletadas (Figura 10 e Anexo III) estavam expostas a múltiplas contaminações com diferentes níveis e frequências de detecção.

Figura 10 – Localização dos pontos de coleta de amostras de abelhas mortas por agrotóxicos



Fonte: Base cartográfica GOOGLE EARTH, 2017, modificado pelo autor.

O desempenho do método analítico mostrou boa linearidade para as curvas de calibração (> 99%) e limites de detecção e quantificação adequados (DAVID *et al*., 2015) (Tabela 17).

Tabela 17 – Desempenho do método analítico para cada pesticida analisado

Agrotóxico	Linearidade (R^2)	LD (ng/g)	LQ (ng/g)
Acetamipride	> 0,99	0,99	3,00
Clotianidina	> 0,99	1,76	5,35
Dinotefuran	> 0,99	0,60	1,82
Imidaclopride	> 0,99	2,45	7,41
Nitenpiram	> 0,99	0,43	1,30
Tiaclopride	> 0,99	0,30	0,91
Tiametoxam	> 0,99	0,59	1,80
Fipronil	> 0,99	0,42	1,26

Fonte: dados da pesquisa.

O coeficiente de determinação da linearidade (R^2) se refere às curvas de calibração e LD e LQ se referem aos limites de detecção e de quantificação não corrigidos quanto à massa ou ao padrão interno.

Independente de contaminação por ingestão ou contato e da dose letal de cada agrotóxico para as abelhas, nosso estudo procurou identificar e quantificar os compostos presentes nas amostras de abelhas mortas coletadas em situação real de campo, com ênfase nos inseticidas neonicotinóides e fipronil.

Das 38 amostras coletadas (Figura 10), 31 (81,6%) apresentaram pelo menos um tipo de resíduo de agrotóxico. Cinco amostras apresentaram 4 tipos de resíduos analisados. O fipronil foi encontrado em 68,4% das amostras e em 50% estava acima do LD_{50} para contaminação oral (SÁNCHEZ-BAYO; GOKA, 2014). Os neonicotinóides foram encontrados em 27 amostras (71,1%) com frequências de contaminação de um a três agrotóxicos por amostra. Muitos estudos mostram a presença de múltiplos agrotóxicos nas abelhas com índices de contaminações dentro de uma faixa de grande amplitude (BOTIAS *et al*., 2015, 2016, 2017; HLADIK *et al*., 2016; LAMBERT *et al*., 2013; PETTIS *et al*., 2013; SÁNCHEZ-BAYO; GOKA, 2014).

Os resíduos encontrados acima dos níveis de detecção (> LD) foram registrados e destacados (Anexo V). Foram encontrados múltiplos inseticidas nas análises com frequências de detecção altas para fipronil e dinotefuran (Tabela 18). Os níveis de detecção se assemelharam aos resultados de Botías *et al*. (2015, 2016, 2017), muito embora eles tenham

pesquisado abelhas do gênero *Bombus*, enquanto nossas análises foram direcionadas para o gênero *Apis*. Vale ressaltar que o método (DAVID *et al*., 2015) e o peso massa de abelha analisada por amostra (100mg/amostra) se mantiveram os mesmos.

Tabela 18 – Medidas descritivas dos agrotóxicos detectados nas 38 amostras

Agrotóxico	n	(%)	Amplitude (ng/g)	Média ± dp (ng/g)	Mdn (ng/g)	DL_{50} Contato	DL_{50} Oral
Acetamipride	2	5,3	1,3 – 2,1	1,8 ± 0,4	2,0	79.000	140.000
Clotianidina	0	-	–	-	-	390	35
Dinotefuran	16	42,1	0,6 – 205,0	9,2 ± 32,4	2,2	490	220
Imidaclopride	11	28,9	2,4 – 16,2	13,9 ± 8,4	13,9	610	130
Nitenpiram	2	5,3	3,8 – 7,4	5,6 ± 1,8	5,6	-	138
Tiaclopride	1	2,6	–	1,6	1,6	360.000	170.000
Tiametoxam	16	42,1	0,6 – 13,6	2,8 ± 2,7	1,8	250	50
Fipronil	26	68,4	0,5 – 23.539,7	1.519,4 ± 4.747,9	10,2	70	10

n = número de ocorrências; Mdn = mediana; DL_{50} = dose letal
Fonte: Sánchez-Bayo; Goka, 2014; dados da pesquisa.

Surpreendeu a alta frequência de resíduos do inseticida dinotefuran. A não incidência de clotianidina também foi uma surpresa, pois se esperava alguma contaminação residual desse inseticida, inclusive porque a clotianidina é um metabólito do tiametoxam de fácil metabolização nas abelhas (BRUNET *et al*., 2005; NAUEN *et al*., 2003; SUCHAIL *et al*., 2004b). Pode ter ocorrido degradação da clotianidina visto que as amostras permaneceram em freezer a -25 °C durante um ano (BONMATIN *et al*., 2015; BURROWS *et al*., 2002).

Rocha *et al*. (2015) analisando 15 amostras retiradas de córregos monitorados quanto à qualidade da água no estado do Mato Grosso encontraram resíduos de tiametoxam em todas as amostras, com uma concentração média de 1,4 µg/L (ppb).

Relatório do Projeto Colmeia Viva registrou 88 amostras de abelhas coletadas para análises, onde 67% apresentaram múltiplas contaminações por agrotóxicos; 77,1% por fipronil e 22,9% por neonicotinóides, o que tornam esses resultados muito semelhantes aos encontrados neste estudo (UNESP; UFSCAR, 2018).

Análises recentes feitas por López-Doval *et al*. (2017) na represa de Guarapiranga, São Paulo, reservatório que retém água de reuso da região urbana e agrícola ao seu redor, encontraram fipronil em 91% das amostras com uma concentração média de 1,4 ng/L e imidaclopride em 31% das amostras com uma concentração média de 2,1 ng/L.

Silva *et al*. (2015) analisando méis produzidos por abelhas que polinizavam plantações de melão encontraram em média 5,9 µg/kg de acetamipride, 26,8 µg/kg de

imidaclopride e 6 μg/kg de tiametoxam. Esses níveis de concentrações desses agrotóxicos provocam efeitos adversos nas abelhas (GODFRAY *et al*., 2014; SCHMUCK *et al*., 2001; SUCHAIL *et al*., 2001). Os autores concluíram que a polinização de culturas agrícolas representa um risco para as abelhas podendo reduzir sua expectativa de vida.

Este estudo mostrou que as abelhas, em situação real de campo, estão expostas a múltiplas contaminações por agrotóxicos em diferente níveis de quantificação e frequências de detecção de acordo com as espécies e as condições ambientais.

6 CONCLUSÕES

Este estudo fornece evidências científicas sobre os impactos causados pelo uso indiscriminado dos agrotóxicos, com ênfase nos neonicotinóides e no fipronil e seus riscos para as abelhas no Brasil.

Esses agrotóxicos sistêmicos são os principais mecanismos de morte em massa e desaparecimento de colônias de abelhas melíferas africanizadas, abelhas sem ferrão, mamangavas e abelhas solitárias, contabilizando uma perda total de 52,2% das colônias dos participantes e uma perda média de 62,0% de colônias no período da pesquisa (2013 a 2016), acompanhando as conclusões divulgadas por recentes publicações internacionais. O agrotóxico mais citado foi o inseticida fipronil, seguido pelos neonicotinóides imidaclopride, tiametoxam e clotianidina.

Os maiores índices percentuais de ocorrências de morte e desaparecimento de abelhas relatados aconteceram na região Sul (68,3%) com destaque para o estado do Rio Grande do Sul e na região Sudeste (62,3%), para o estado de São Paulo. As outras regiões apresentaram menores índices de ocorrências. Dentre as 27 unidades federativas, 18 apresentaram ao menos uma ocorrência.

Ocorreram perdas de colônias em todos os meses durante os quatro anos da pesquisa sendo janeiro, março, junho, agosto, novembro e dezembro os meses com maiores percentuais de registros (9,7% a 13,8%). Durante os meses de fevereiro, abril, maio, julho, setembro e outubro os percentuais foram menores (entre 4,0 e 7,7%).

O prejuízo financeiro médio por participante da pesquisa foi de R$ 26.286,00 e o prejuízo médio por colônia perdida foi de R$ 447,00.

Os prejuízos ambientais restritos ao uso dos agrotóxicos para a apicultura podem ser avaliados pelas contaminações dos biomas, biotas e humanos atingidos considerando-se as perdas de pastos apícolas saudáveis, a impossibilidade da comercialização de produtos orgânicos, o surgimento de doenças e a perda da biodiversidade sendo este o maior prejuízo causado pelo uso indiscriminado dos pesticidas, o que certamente é incalculável e irreversível.

Quanto aos prejuízos sociais foram relatados a redução do poder aquisitivo, a perda de crédito e a perda de empregos de apicultores e meliponicultores na atividade apícola. É merecedor de destaque a coincidência das regiões no Brasil onde ocorreram mais registros de mortes registradas no aplicativo BEE ALERT e as regiões onde mais ocorrem as concentrações de agrotóxicos aplicados na agricultura nacional.

Todos os registros foram localizados com sistema de posicionamento global (*GPS – Global Positioning System*) e identificados em um mapa representativo das ocorrências (Figura 8). São Paulo apresentou maior número de ocorrências com 116 registros (47,0%), seguido pelo Rio Grande do Sul (15,0%), Minas Gerais (10,5%) e Paraná (5,3%).

As culturas agrícolas onde ocorreram maiores índices de morte e desaparecimento de abelhas foram a cana de açúcar, a laranja e as frutas tropicais respectivamente.

Observou-se que o pasto apícola é multivariado, com ênfase na mata nativa (47,7%), o que indica uma predominância da apicultura fixa (85,8%). Já a apicultura migratória (14,2%) enfatiza as monoculturas do eucalipto, laranja, maçã, nabo forrageiro (37,8%) e das frutas tropicais (5,4%). Os apicultores que identificaram as gramíneas, as áreas urbanas ou não souberam identificar o pasto apícola de suas abelhas totalizaram 9,0%.

Estimou-se em torno de 770 milhões de abelhas mortas ou desaparecidas nos 247 registros analisados. Essa estimativa de abelhas mortas em quatro anos de registros é somente uma pequena amostragem do total de abelhas que devem ter morrido por ação dos pesticidas em um cenário real de campo no país, não estando aqui estimadas as colônias de abelhas que foram mortas na natureza, em especial pela ação das pulverizações aéreas e efeitos da deriva.

As abelhas dos gêneros *Apis* e *Melipona* sofreram maiores baixas. Somente no estado do Paraná os meliponíneos tiveram 1.508 ninhos exterminados pelos agrotóxicos, com casos confirmados de morte massiva e síndrome do desaparecimento da colônia (*CCD*).

O resultado da análise de espectrometria de massa das amostras de abelhas mortas, coletadas em situações reais de campo, confirmaram a presença de agrotóxicos neonicotinóides e fipronil em níveis letais para esses insetos de acordo com a literatura atualizada ($>DL_{50}$). Também foram encontrados agrotóxicos em níveis subletais ($<DL_{50}$), cuja acumulação no organismo ao longo do tempo pode levar as abelhas à letalidade ou submetê-las aos sintomas da síndrome do desaparecimento da colônia (*CCD*). Metabólitos dos neonicotinóides, fipronil, outros agrotóxicos e seus metabólitos foram identificados, mas não foi possível quantificá-los devido à falta dos padrões analíticos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da carência de dados sobre as atividades apícolas no país, as fronteiras abertas para o contrabando e o descaminho de agrotóxicos proibidos e falsificados, o temor dos apicultores em denunciar fatos sobre desaparecimento e morte das abelhas temendo a perda de autorização para o uso das terras cedidas para a colocação das abelhas, represálias das indústrias de agrotóxicos e da agroindústria regional, a negligência e omissão de associações, federações apícolas sobre a divulgação e registros dessas perdas, fica comprovado que o Brasil, já sendo o maior consumidor mundial de agrotóxicos é também um forte candidato a ser o recordista mundial de mortes de colônias de abelhas de todos os gêneros e espécies.

Mais atenção deve ser dada a esse fato pelos apicultores, meliponicultores, associações apícolas, federações, instituições públicas, empresas privadas e cidadãos, com ações efetivas para que prejuízos ambientais, financeiros e sociais não venham a ser lamentados no futuro próximo, para que não se repita no Brasil a realidade existente hoje na China, na província de Sichuan, onde homens e mulheres substituem as abelhas na função de polinizadores pincelando manualmente as flores de diversas culturas, como homens-abelha, até mesmo escalando árvores frutíferas. Devido ao uso indiscriminado de agrotóxicos num passado recente, nessa região não existem mais abelhas para polinizar as flores. Isso representa um alerta para mais uma catástrofe ambiental com elevado risco de ocorrer em nosso país como consequência do uso exagerado de agrotóxicos, em especial os inseticidas sistêmicos neonicotinóides e fipronil, comprovados e denunciados neste estudo.

7 REFERÊNCIAS

ABBOTT, V. A.; NADEAU, J. L.; HIGO, H. A.; WINSTON, M. L. Lethal and sublethal effects of imidacloprid on *Osmia lignaria* and clothianidin on *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 3, p. 784-796. 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18613579>. DOI: 10.1093/jee/101.3.784.

A.B.E.L.H.A. Associação Brasileira de Estudos das Abelhas. 2018. Disponível em: <http://abelha.org.br/institucional/>.

AIZEN, M. A.; HARDER L. D. The global stock of domesticated honeybees is growing slower than agricultural demand for pollination. **Journal of Current Biology**, v. 19, n. 11, p. 915-918. 2009. Disponível em: <http://www2.unine.ch/repository/default/content/sites/spsw/files/shared/SPSW/Documents/Publication_speakers_Summer_school/Ghazoul/Aizen2010CurBiol.pdf>. DOI: 10.1016/j.cub.2009.03.071.

ALAUX, C.; BRUNET, J-L.; DUSSAUBAT, C.; MONDET, F.; TCHAMITCHAN, S.; COUSIN, M.; BRILLARD, J.; BALDY, A.; BELZUNCES, L. P.; LE CONTE, Y. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 774-782. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2847190/pdf/emi0012-0774.pdf>. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.

ALBURAKI, M.; CHEAIB, B.; QUESNEL, L.; MERCIER, P-L.; CHAGNON, M.; DEROME, N. Performance of honeybee colonies located in neonicotinoid treated and untreated cornfields in Quebec. **Journal of Applied Entomology**, v. 141, n. 1-2, p. 112-121. 2017. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jen.12336/epdf>. DOI: 10.1111/jen.12336.

ALEXANDRATOS, N.; J. BRUINSMA. **World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision**. ESA Working paper No. 12-03. Rome: FAO, 2012. 147 p.

ALIOUANE, Y.; EL HASSANI, A. K.; GARY, V.; ARMENGAUD, C.; LAMBIN, M.; GAUTHIER, M. Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 1, p. 113-122. 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18700810>. DOI: 10.1897/08-110.1.

ALIX, A.; VERGNET, C. Risk assessment to honeybees: a scheme developed in France for non-sprayed systemic compounds. **Pest Management Science**, v. 63, n. 11, p. 1069-1080. 2007. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.491.7833&rep=rep1&type=pdf>. DOI: 10.1002/ps.1463.

ALLEE, W. C. Animal aggregation. **The Quarterly Review of Biology**, v. 2**,** n. 3, p. 367-398. 1927. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/2808323>.

ALVES, P. R. L.; CARDOSO, E. J. B. N.; MARTINES, A. M.; SOUSA, J. P.; PASINI, A. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. **Chemosphere**, v. 90, n. 11, p. 2674-2682. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23261124>. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.11.046.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of the Association of Analytical Chemists International**, v. 86, n. 2, p. 412-431. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12723926>.

ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, v. 26, n. 1, p. 32- 46. 2001. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x/full>. DOI: 10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x.

ANDERSON, M. J. Permanova: a Fortran computer program for permutational multivariate analysis of variance. **Department of Statistics**, University of Auckland, New Zealand. 2005. Disponível em: <http://img2.timg.co.il/forums/1_124959686.pdf>.

ANDERSON, M. J.; WALSH, D. C. I. Permanova, Anosim, and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: What null hypothesis are you testing? **Ecological Monographs**, v. 83, n.4, p. 557- 574. 2013. Disponível em: <www.onlinelibrary.willey.com/doi/10.1890/12-2010.1/full>. DOI: 10.1890/12-2010.1.

ANTÚNEZ, K.; INVERNIZZI, C.; MENDOZA, Y.; VANENGELSDORP, D.; ZUNINO, P. Honeybee colony losses in Uruguay during 2013-2014. **Apidologie**, v.48, n. 3, p. 364-370. 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13592-016-0482-2>. DOI: 10.1007/s13592-016-0482-2.

APENET - Monitoraggio e ricerca in apicoltura. In: **Anais da** "**APENET**: online le presentazioni dell'incontro tenutosi il 15, 16 feb. 2010. 100 p. CRA-API di Bologna". Disponível em: <http://www.reterurale.it/downloads/APENET_2010_Report_EN 6_11.pdf>.

ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 123, n. 3, p. 324-334. 2014. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10646-014-1190-1>. DOI: 10.1007/s10646-014-1190-1.

ASCHER, J. S.; PICKERING, J. Apoidea species. **Discover Life Electronic Catalogue**, 2017. Disponível em: <http://www.discoverlife.org/mp/20q?guide=Apoidea_species>.

AUFAUVRE, J.; BIRON, D. G.; VIDAU, C.; FONTBONNE, R.; ROULDEL, M.; DIOGON, M.; VIGUÈS, B.; BELZUNCES, L. P.; DELBAC, F.; BLOT, N. Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. **Nature Scientific Report**, v. 2, n. 326. 2012. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/srep00326>. DOI: 10.1038/srep00326.

BADIO, B.; DALY, J. W. Epibatidine, a potent analgetic and nicotinic agonist. **Molecular Pharmacology**, v. 45, n. 4, p. 563-569. 1994. Disponível em: <http://molpharm.aspetjournals.org/content/45/4/563.long>.

BALDERRAMA, N.; NUÑEZ, J.; GIURFA, M.; TORREALBA, J.; DE ALBORNOZ, E. G.; ALMEIDA, L. O. A deterrent response in honeybee (*Apis mellifera*) foragers: dependence on disturbance and season. **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 5, p. 463-470. 1996. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022191095001298>. DOI: 10.1016/0022-1910(95)00129-8.

BARBARA, G. S.; ZUBE, C.; RYBAK, J.; GAUTHIER, M.; GRÜNEWALD, B. Acetylcholine, GABA and glutamate induce ionic currents in cultured antennal lobe neurons of the honeybee, *Apis mellifera*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 191, n. 9, p. 823-836. 2005. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00359-005-0007-3>. DOI: 10.1007/s00359-005-0007-3.

BARBARA, G. S.; GRÜNEWALD, B.; PAUTE, S.; GAUTHIER, M.; RAYMOND-DELPECH, V. Study of nicotinic acetylcholine receptors on cultured antennal lobe neurons from adult honeybee brains. **Invertebrate Neuroscience**, v. 8, n. 1, p. 19-29. 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10158-007-0062-2>. DOI: 10.1007/s.10158-007-0062-2.

BARON, G. L.; RAINE, N. E.; BROWN, M. J. General and species-specific impacts of a neonicotinoid insecticide on the ovary development and feeding of wild bumblebee queens. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 284, n. 1854, p. 1-8. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28469019>. DOI: 10.1098/rspb.2017.0123.

BAYER BEE CARE. Bayer Bee Care Science Projects Worldwide. 2018. Disponível em: <http://beecare.bayer.com/bilder/upload/dynamicContentFull/Publications/Bee-Care_Science-Projects-Overview_Posterjfv11r50.pdf>.

BECHER, M. A.; OSBORNE, J. L.; THORBEK, P.; KENNEDY, P. J.; GRIMM, V. Towards a systems approach for understanding honeybee decline: a stocktaking and synthesis of existing models. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, n. 4, p. 868-880. 2013. Disponível em: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1365-2664.12112>. DOI: 10.1111/1365-2664.12112.

BECHER, M. A.; GRIMM, V.; THORBEK, P.; HORN, J.; KENNEDY, P. J.; OSBORNE, J. L. BEEHAVE: a systems model of honeybee colony dynamics and foraging to explore multifactorial causes of colony failure. **Journal of Applied Ecology**, v. 51, n. 2, p. 470-482. 2014. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.12222/epdf>. DOI: 10.1111/1365-2664.12222.

BEINHART, E. G. Production and use of nicotine. In: **1950-1951 Yearbook of agriculture**. p. 773-779. Washington, DC: USDA Press. 1950. Disponível em: <http://naldc.nal.usda.gov/download/IND43894162/PDF>.

BENUSZAK, J.; LAURENT, M.; CHAUZAT, M-P. The exposure of honey bees (Apis mellifera; Hymenoptera: Apidae) to pesticides: room for improvement in research. **Science of the Total Environment**, v. 587-588, n. 5, p. 423-438. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717303030?via%3Dihub>. DOI :10.1016/j.scitotenv.2017.02.062.

BENZIDANE, Y.; TOUINSI, S.; MOTTE, E.; JADAS-HÉCART, A.; COMMUNAL, P-Y.; LEDUC, L.; THANY, S. H. Effect of thiamethoxam on cockroach locomotor activity is associated with its metabolite clothianidin. **Pest Management Science**, v. 66, n. 12, p. 1351-1359. 2010. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.2022/epdf>. DOI: 10.1002/ps.2022.

BERNHARDT, E.S.; ROSI, E. J.; GESSNER, M. O. Synthetic chemicals as agents of global change. **Frontiers in Ecology and Environment**, v. 15, n. 2, p. 84–90. 2017. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/wol1/doi/10.1002/fee.1450/full>.

BIESMEIJER, J.C.; ROBERTS, S. P. M.; REEMER, M.; OHLEMULLER, R.; EDWARDS, M.; PEETERS, T.; SCHAFFERS, A. P.; POTTS, S. G.; KLEUKERS, R.; THOMAS, C. D.; SETTELE, J.; KUNIN, W. E. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. **Science**, v. 313, n. 5785, p. 351-354. 2006. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/313/5785/351>. DOI: 10.1126/science.1127863.

BLACQUIÈRE, T.; SMAGGHE, G.; VAN GESTEL, C. A. M.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973-992. 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10646-012-0863-x.pdf>. DOI: 10.1007/s10646-012-0863-x.

BLOCHTEIN, B. Monoculturas e agrotóxicos são causas do sumiço das abelhas. **Instituto Humanitas Unisinos**. Entrevista publicada em: 12 mai. 2015. Disponível em: <http://www.ihu.unisinos.br/entrevistas/542493-monoculturas-e-agrotoxicos-sao-as-causas-do-sumico-das-abelhas-entrevista-especial-com-betina-blochtein>.

BODEREAU-DUBOIS, B.; LIST, O.; CALAS-LIST, D.; MARQUES, O.; COMMUNAL, P-Y.; THANY, S. H.; LAPIED, B. Transmembrane potential polarization, calcium influx and receptor conformational state modulate the sensitivity of the imidacloprid-insensitive neuronal insect nicotinic acetylcholine receptor to neonicotinoid insecticides. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 341, n. 2, p. 326-339. 2012. Disponível em: <http://jpet.aspetjournals.org/content/341/2/326.full.pdf>. DOI: 10.1124/jpet.111.188060.

BOMBARDI, L. M. **Pequeno ensaio cartográfico sobre o uso dos agrotóxicos no Brasil**. São Paulo: Laboratório de Geografia Agrária - USP, 2016. 40 p. Disponível em: <https://www.larissabombardi.blog.br/livros>. ISBN: 978.13.679.2527.4.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia**. São Paulo: FFLCH - USP, 2017. 296 p. Disponível em: <https://www.larissabombardi.blog.br/livros>. ISBN:978-85-7506-310-1.

BONMATIN J-M. Conclusions Round Table on intoxication of bees due to pesticides: results from scientists. In.: **41th Apimondia Congress**, 2009, Montpellier, France (updated in PISA *et al.*, 2015). Disponível em: <http://www.bijensterfte.nl/images/Bonmatin-conclusions-sentinelle-gb-2009.pdf>.

BONMATIN, J-M.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; LONG, E.; MARZARO, M.; MITCHELL, E. A. D.; NOOME, D. A.; SIMON-DELSO, N.; TAPPARO, A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 22, n. 1, p. 35-67. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-014-3332-7>. DOI: 10.1007/s11356-014-3332-7.

BONMATIN, J-M.; MARCHAND, P.A.; COTTE, J.F.; AAJOUD, A.; CASABIANCA, H.; GOUTAILLER, G.; COURTIADE, M. Bees and systemic insecticides (imidacloprid, fipronil) in pollen: subnano-quantification by HPLC/MS/MS and GC/MS. In: DEL RE, A.A.M.; CAPRI, E.; FRAGOULIS-TREVISAN, M. (Eds.) **Environmental fate and ecological effects of pesticide**. La Goliardica Pavese, Pavia, (It), p. 837-845. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/47463365>.

BONMATIN, J-M.; MOINEAU, I.; CHARVET, R.; FLECHE, C.; COLIN, M. E.; BENGSCH, E. R. A LC/APCI-MS/MS method for analysis of imidacloprid in soils, in plants and in pollen. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 9, p. 2027-2033. 2003. Disponível em: < http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac020600b>. DOI: 10.1021/ac020600b.

BORTOLOTTI, L.; MONTANARI, R.; MARCELINO, J.; MEDRZYCKI, P.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effect of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honeybees. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 63-67. 2003. Disponível em: <http://www.moraybeedinosaurs.co.uk/neonicotinoid/bortolotti.pdf>.

BOSCH, J.; KEMP, W. P. Bee population returns and cherry yields in an orchard pollinated with *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 408-413. 2006. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1603/0022-0493-99.2.408>. DOI: 10.1603/0022-0493-99.2.408.

BOTÍAS, C.; DAVID, A.; HORWOOD, J.; ABDUL-SADA, A.; NICHOLLS, E.; HILL, E.; GOULSON, D. Neonicotinoid residues in wildflowers, a potential route of chronic exposure for bees. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 21, p. 12731-12740. 2015. Disponível em: <http://pollinatorstewardship.org/wp-content/uploads/2016/01/2015-Botias-et-al.pdf>. DOI: 10.1021/acs.est.5b03459.

BOTÍAS, C.; DAVID, A.; HILL, E.; GOULSON, D. Contamination of wild plants near neonicotinoid seed treated crops, and implications for non-target insects. **Science of the Total Environment**, v. 566-567, n. 6, p. 269-278. 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716309950>. DOI: 10.1016/l.scito tenv.2016.05.065.

BOTÍAS, C.; DAVID, A.; HILL, E.; GOULSON, D. Quantifying exposure of wild bumblebees to mixture of agrochemicals in agricultural and urban landscapes. **Environmental Pollution**, v. 222, p. 73-82. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116321479>. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.01.001.

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química e Sociedade**. v. 34, n. 1, p. 10-15. 2012. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc34_1/03-QS-02-11.pdf>.

BRANCO, S. M. **Natureza e agroquímicos**. 3ª ed. São Paulo: Moderna, 2013. p. 22. 80 p.

BRASIL. **Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989**. Disponível em: <http://www.planalto. gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm >.

BRASIL. **Lei Federal nº 11.936, de 14 de maio de 2009**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/Lei/L11936.htm>.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria n° 329 de 02 de setembro de 1985**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção 1, p. 12941, 1985. Disponível em: <http://www.jusbrasil.com.br/diarios/3541470/pg-45-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-03-09-1985/pdfView>.

BRASIL. **Resolução nº. 510, de 07 de abril de 2016**. Publicada no DOU nº 98, de 24 de maio de 2016 - seção 1, p. 44-46.

BRASIL. Subchefia Jurídica da Casa Civil. **Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011**. Publicada no Diário Oficial da União, Seção 1, do dia 26 de dezembro de 2011, p. 266.

BREEZE, T. D.; BAILEY, A. P.; BALCOMBE, K. G.; POTTS, S. G. Pollination services in the UK: how important are honeybees? **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 142, n. 3-4, p. 137-143. 2011. Disponível em: <http://centaur.reading.ac.uk/25072/2/Insect_pollination_in_UK_agriculture_Final.pdf>. DOI: 10.1016/j.agee.2011.0 3.020.

BRITTAIN C. A.; VIGHI, M.; BOMMARCO, R.; SETTELE, J.; POTTS, S. G. Impacts of a pesticide on pollinator species richness at different spatial scales. **Basic and Applied Ecology**, v. 11, n. 2, p. 106-115. 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1439179109001418>. DOI: 10.1016/j.baae.2009.11.007.

BRODSCHNEIDER, R.; GRAY, A.; VAN DER ZEE, R.; NOUREDDINE, A.; BRUSBARDIS, V.; CHARRIÈRE, J.-D.; CHLEBO, R.; COFFEY, M.; CRAILSHEIM, K.; DAHLE, B.; DANIHLÍK, J.; DANNEELS, E.; DE GRAAF, D.; DRAŽIĆ, M;. FEDORIAK, M.; FORSYTHE, I.; GOLUBOVSKI, M.; GREGORC, A.; GRZĘDA, U.; HUBBUCK, I.; TUNCA, R. I.; KAUKO, L.; KILPINEN, O.; KRETAVICIUS, J.; KRISTIANSEN, P.; MARTIKKALA, M.; MARTÍN-HERNÁNDEZ, R.; MUTINELLI, F.; PETERSON, M.; OTTEN, C.; OZKIRIM, A.; RAUDMETS, A.; SIMON-DELSO, N.; SOROKER, V.; TOPOLSKA, G.; VALLON, J.; VEJSNÆS, F.; WOEHL, S. Preliminary analysis of loss rates of honey bee colonies during winter 2015/16 from the COLOSS survey. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 5, p. 375-378. 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2016.1260240>. DOI:10.1080/00218839.2016.1260240.

BROWN, L. R. **Eco Economia: construindo um economia para a terra**. Salvador: UMA - Universidade Livre da Mata Atlântica. 2003. p. 154-155, 177 e 226. 368 p. Disponível em: <http://www.biodiversidade.rs.gov.br/arquivos/1161806787/Eco_Economia.pdf>.

BRUNET, J-L.; BADIOU, A.; BELZUNCES, L. P. *In vivo* metabolic fate of [^{14}C]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *Apis mellifera* L. **Pest Management Science**, v. 61, n. 8, p. 742-748. 2005. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.1046/epdf>. DOI: 10.1002/ps.1046.

BRYDEN, J.; GILL, R. J.; MITTON, R. A. A.; RAINE, N. E.; JANSEN, V. A. A. Chronic sublethal stress causes bee colony failure. **Ecology Letters**, v. 16, n. 12, p. 1463-1469. 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ele.12188/epdf>. DOI: 10.1111/ele.12188.

BURROWS, H. D.; CANLE, L. M.; SANTABALLA, J. A.; STEENKEN, S. Reaction pathways and mechanisms of photo degradation of pesticides. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 67, n. 2, p. 71-108. 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134402002774?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/S1011-1344(02)00277-4.

BYRNE, F. J.; TOSCANO, N. C. Uptake and persistence of imidacloprid in grapevines treated by chemigation. **Crop Protection**, v. 25, n. 8, p. 831-834. 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121940500311X>. DOI: 10.1016/j.cropro.2005.11.004.

CALDERONE, N. W. Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: trend analysis of aggregate data for the period 1992-2009. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, e. 37235. p. 1-27. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0037235&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0037235.

CARNEIRO, F. F.; AUGUSTO, L. G. S.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; BÚRIGO, A. C. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. (Org.) de Carneiro, F. F. 2ª ed. online. São Paulo: Expressão Popular, 2015. 624 p. Disponível em: <http://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wpcontent/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf>. ISBN: 978-85-9876-880-9.

CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. (Título original: Silent spring, 1962). 1ª ed. São Paulo: Gaia, p. 29-33, 40-41, 73-74, 141, 144. 340 p. 2010.

CASIDA, J. E. Neonicotinoid metabolism: compounds, substituents, pathways, enzymes, organisms, and relevance. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 2923-2931. 2011. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf102438c>. DOI: 10.1021/jf102438c.

CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Neuroactive Insecticides: Targets, Selectivity, Resistance, and Secondary Effects. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n. 1, p. 99-117. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/234132095_Neuroactive_Insecticides_Targets_Selectivity_Resistance_and_Secondary_Effects>. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153645.

CASTILHOS, D. **Diagnóstico situacional dos apicultores e meliponicultores no contexto da agricultura familiar da mesorregião oeste do Rio Grande do Norte**. 58f. 2014. Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 2014.

CASTILHOS, D. Registro fotográfico de Síndrome do Colapso da Colônia (*CCD*) em São Clemente, Paraná. 2016.

CASTILHOS, D.; BERGAMO, G. C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; BELCHOR-FILHO, V. Apiculture in Rio Grande do Norte, Brazil: a four-year follow-up survey. **Latin American Journal of Business Management**, v. 7, n. 1, p. 96-116. 2016. Disponível em: <http://www.lajbm.net/index.php/journal/article/view/331>. ISSN: 2178-4833.

CASTILLO-DIAZ, J. M.; MARTIN-LAURENT, F.; BEGUET, J.; NOGALES, R.; ROMERO, E. Fate and effect of imidacloprid on vermicompost-amended soils under dissimilar conditions: risk for soil functions, structure, and bacterial abundance. **Science of the Total Environment**, v. 579, n. 6, p. 1111-1119. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716325219?via=ihub>. DOI: 10.1016/j.scitotenv. 2016.11.082.

CASTLE, S. J.; BYRNE, F. J.; BI, J. L.; TOSCANO, N. C. Spatial and temporal distribution of imidacloprid and thiamethoxam in citrus and impact on *Homalodisca coagulata* populations. **Pesticide Management Science**, v. 61, n. 1, p. 75-84. 2005. Disponível em: <http://naldc.nal.usda.gov/download/6801/PDF>. DOI: 10.1002/ps. 949.

CBA – CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE APICULTURA E MELIPONICULTURA. **Audiência Pública – Câmara dos Deputados. Mortandade Disseminada de Abelhas devido ao uso de agrotóxicos**. Brasília, DF, 04 de julho de 2013. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Mel_e_produtos_apicolas/21RO/App_CBA.pdf>.

ČEREVKOVÁ, A.; MIKLISOVÁ, D.; CAGÁŇ, Ľ. Effects of experimental insecticide applications and season on soil nematode communities in a maize field. **Crop Protection**, v. 92, n. 2, p. 1-15. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219416302848?via=ihub>. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.10.0007.

CERQUEIRA, A.; FIGUEIREDO, R. A. Percepção ambiental de apicultores: desafios do atual cenário apícola no interior de São Paulo. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 17-21. 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.22571/actabra3201754>.

CHAGNON, M.; GINGRAS J.; DE OLIVEIRA, D. Complementary aspects of strawberry pollination by honey and indigenous bees (Hymenoptera). **Journal of Economic Entomology**, v. 86, n. 2, p. 416-420. 1993. Disponível em: <http://jee.oxfordjournals.org/content/86/2/416>. DOI: 10.1093/jee/86.2.416.

CHAGNON M.; KREUTZWEISER, D.; MITCHELL, E. A. D.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; VAN DER SLUIJS, J. P. Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 119-134, 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-014-3277-x>. DOI: 10.1007/s11356-014-3277-x.

CHAPLIN-KRAMER, R.; DOMBECK, E.; GERBER, J.; KNUTH, K. A.; MUELLER, N. D.; MUELLER, M.; ZIV, G.; KLEIN, A-M. Global malnutrition overlaps with pollinator-dependent micronutrient production. **Procedures of Royal Society B**, v. 281, n. 1799, p. 1-7. 2014. Disponível em: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/royprsb/281/1794/20141799.full.pdf>. DOI: 10.1098/rspb.2014.1799.

CHARPENTIER, G.; LOUAT, F.; BONMATIN, J-M.; MARCHAND, P. A.; VANIER, F.; LOCKER, D.; DECOVILLE, M. Lethal and sublethal effects of imidacloprid, after chronic exposure, on the insect model *Drosophila melanogaster*. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 7, p. 4096-4102. 2014. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es405331c>. DOI: 10.1021/es405331c.

CHAUZAT, M-P.; FAUCON, J-P.; MARTEL, A-C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N.; AUBERT, M. A survey of pesticides residues in pollen loads collected by honeybees in France. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 253-262. 2006. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1603/0022-049399.2.253>. DOI: 10.10 93/jee/99.2.253.

CHRÉTIEN, F.; GIROUX, I.; THÉRIAULT, G.; GAGNON, P.; CORRIVEAU, J. Surface runoff and subsurface tile drain losses of neonicotinoids and companion herbicides at edge-of-field. **Environmental Pollution**, v. 224, n. 4, p. 255-264. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116307564?via=ihub>. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.02.002.

CHRISTEN, V.; BACHOFER, S.; FENT, K. Binary mixtures of neonicotinoids show different transcriptional changes than single neonicotinoids in honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Pollution**, v. 220, p. 1264-1270. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116315482?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.10.105.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 47-54. 1993. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357583710357>. DOI: 10.1006/pest.1993.1035.

COLIN, M. E.; BONMATIN, J. M.; MOINEAU, I.; GAIMON, C.; BRUN, S.; VERMANDERE, J. P. A method to quantify and analyze the foraging activity of honeybees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, n. 3, p. 387-395. 2004. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/8329143_A_Method_to_Quantify_and_Analyze_the_Foraging_Activity_of_Honey_Bees_Relevance_to_the_Sublethal_Effects_Induced_by_Systemic_Insecticides>. DOI: 10.1007/s00244-004-3052-y.

CONTIERO, M.; ACHTERBERG, F. Foreword by Greenpeace. IN: WOOD, T.; GOULSON, D. **The environmental risks of neonicotinoids pesticides: a review of the evidence post-2013**. Paris: Greenpeace France, 2017. p. 5. 87p. Disponível em: <https://www.greenpeace.ch/wp-content/uploads/2017/01/neonicotinoid-pesticides_final_single_web_FINAL.pdf>.

COUVILLON, M. J.; BARTON, S. N.; COHEN, J. A.; FABRICIUS, O. K.; KÄRCHER, M. H.; COOPER, L. S.; SILK, M. J.; HELANTERÄ, H.; RATNIEKS, F. L. W. Alarm pheromones do not mediate rapid shifts in honeybee guard acceptance threshold. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 12, p. 1306-1308. 2010. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007s10886-010-9881-4>. DOI: 10.1007/s10886-010-9881-4.

COUVILLON, M.J.; RATNIEKS, F. L. W. Environmental consultancy: dancing bee bioindicators to evaluate landscape health. **Frontiers in Ecology and Evolution**. v. 3, n. 44, p. 1-8. 2015. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2015.00044/full >. DOI: 10.3389/fevo.2015.00044.

COX-FOSTER, D. L.; PETTIS, J. S.; UNDERWOOD, R. M.; VANENGELSDORP, D. Colony Collapse Disorder: have you seen this before? Department of Entomology. Pennsylvania State University. **Conference…2007**. University Park, PA, USA. 2007a. 8p. Disponível em: <https://ento.psu.edu/directory/duv2/underwood_vanEngelsdorp_2007.pdf>.

COX-FOSTER, D. L.; CONLAN, S.; HOLMES, E. C.; PALACIOS, G.; EVANS, J. D.; MORAN, N. A.; QUAN, P. L.; BRIESE, T.; HORNIG, M.; GEISER, D. M.; MARTINSON, V.; VANENGELSDORP, D.; KALKSTEIN, A. L.; DRYSDALE, A.; HUI, J.; ZHAI, J.; CUI, L.; HUTCHISON, S. K.; SIMONS, J. F.; EGHOLM, M.; PETTIS, J. S.; LIPKIN, W. I. A metagenomic survey of microbes in honeybee colony collapse disorder. **Science**, v. 318, n. 5848, p. 283-287, 2007b. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/318/5848/283>. DOI: 10.1126/science.1146498.

CRESSWELL, J. E. A meta-analysis of experiments testing the effects of neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honeybees. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 1, p. 149-157. 2011. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10646-010-0566-0>. DOI: 10.1007/s10646-010-0566-0.

CRESSWELL, J. E.; DESNEUX, N.; VANENGELSDORP, D. Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honeybees: an evaluation by Hill's epidemiological criteria. **Pest Management Science**, v. 68, n. 6, p. 819-827. 2012a. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.3290/epdf>. DOI: 10.1002/ps.3290.

CRESSWELL, J. E.; PAGE, C. J.; UYGUN, M. B.; HOLMBERGH, M.; LI, Y.; WHEELER, J. G.; LAYCOCK, I.; POOK, C. J.; DE IBARRA, N. H.; SMIRNOFF, N.; TYLER, C. R. Differential sensitivity of honeybees and bumble bees to a dietary insecticide (imidacloprid). **Zoology**, v. 115, n. 6, p. 365-371. 2012b. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944200612000694>. DOI: 10.1016/j.zool.2012.05.003.

CRESSWELL, J. E.; THOMPSON, H. M. Comment on: "A common pesticide decreases foraging success and survival in honeybees". **Science**, v. 337, n. 6101, p. 1453. 2012. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/337/6101/1453.2>. DOI: 10.1126/science.1224618.

CRESSWELL, J. E.; ROBERT, F-X. L.; FLORANCE, H.; SMIRNOFF, N. Clearance of ingested neonicotinoid pesticide (imidacloprid) in honey bee (*Apis mellifera*) and bumblebee (*Bombus terrestris*). **Pest Management Science**, v. 70, n. 2, p. 332-337. 2014. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.3569/pdf>. DOI: 10.1002/ps.3569.

CUNHA, D. A. S.; NÓBREGA, M. A. S.; JUNIOR, W. F. A. Insetos Polinizadores em Sistemas Agrícolas, **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 18, n. 4, p. 185-194, 2014. Disponível em: <http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/ensaioeciencia/article/view/1180/2746>.

CUTLER, G. C.; SCOTT-DUPREE, C. D. Exposure to clothianidin seed-treated canola has no long-term impact on honeybees. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 3, p. 765-772. 2007. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1603/00220493%282007%29100%5B765%3AETCSCH%5D2.0.CO%3B2>. DOI: 10.1371/ journal.pone.0032151.

DABERKOW, S.; KORB, P.; HOFF, F. Structure of the U.S. beekeeping industry: 1982-2002. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 3, p. 868-886. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/26678128_Structure_of_the_US_Beekeeping_industry_1982-2002>. DOI: 10.16013/029.102.0304.

DAILY, G. C. **Nature's services: societal dependence on natural ecosystem**. Washington: Island Press, 1997. 412p. Disponível em: <http://willsull.net/la370/resources/Ecology/Daily.pdf>. ISBN: 9781559634762.

DAILY, G. C.; ALEXANDER, S.; EHRLICH, P. R.; GOULDER, L.; LUBCHENCO, J.; MATSON, P. A.; MOONEY, H. A.; POSTEL, S.; SCHNEIDER, S. H.; TILMAN, D.; WOODWELL, G. M. Ecosystem services: benefits supplied to human societies by natural ecosystems. **Issues in Ecology**, v. 1, n. 2, 17 p. 1997. Disponível em: <http://www.esa.org/esa/wp-content/uploads/2013/03/issue2.pdf>.

DAINAT, B.; EVANS, J. D.; CHEN, Y. P.; GAUTHIER, L.; NEUMANN, P. Predictive marks of honeybee colony collapse. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e32151, 2012. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0032151>. DOI: 10.1371/ journal.pone.0032151.

DANIELE, G.; GIROUD, B.; JABOT, C.; VUILLET, E. Exposure assessment of selected pesticide residues in honeybees, beebread and beeswax from French beehives by liquid chromatography-quadrupole mass spectrometry. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 7, p. 6145-6153. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-017-9227-7>. DOI: 10.1007/s11356-017-9227-7.

DAVID, A.; BOTÍAS, C.; ABDUL-SADA, A.; GOULSON, D. Sensitive determination of mixtures of neonicotinoid and fungicide residues in pollen and single bumblebees using a scaled down QuEChERS method for exposure assessment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 26, p. 8151-8162. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26329280>. DOI: 10.1007/s00216-015-8986-6.

DAVID, A.; BOTÍAS, C.; ABDUL-SADA, A.; NICHOLLS, E.; ROTHERAY, E. L.; HILL, E. M.; GOULSON, D. Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. **Environmental International**, v. 88, n. 8, p. 169-178. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.12.011>. DOI: 10.1016/j.envint.2015.12.011.

DAVIES, D. T. **Aromatic heterocyclic chemistry**. Oxford: Oxford Science Publication, chap. 4. 1992. 96 p.

DE JONG, D. Desaparecimento de abelhas - Brasil. In: Congresso Iberolatinoamericano de Apicultura, 10. Natal, 2010. **Anais**… CD-ROM.

DE JONG D.; MESSAGE, D. New and exotic disease threats for Brazilian bees. In: Encontro Sobre Abelhas, 8, 2008. **Anais…** Ribeirão Preto: USP.

DE LEEUW, E. D. Choosing the method of data collection. In: DE LEEUW, E. D.; HOX, J. J.; DILLMAN, D. A. (Eds.). **International handbook of survey methodology**. New York: Lawrence Erlbaum Associates, Taylor & Francis Group, 2008. p. 113-135. Disponível em: <http://joophox.net/papers/SurveyHandbookCRC.pdf>.

DE LIMA E SILVA, C.; BRENNAN, N.; BROUWER, J. M.; COMMANDEUR, D.; VERWEIJ, R. A.; VAN GESTEL, C. A. M. Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. **Ecotoxicology**, v. 26, p. 1-10. 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10646-017-1790-7>. DOI: 10.1007/ s10646-017-1790-7.

DECKER, M. W.; MEYER, M. D. Therapeutic potential of neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists as novel analgesics. **Biochemical Pharmacology**, v. 58, n. 6, p. 917-923. 1999. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295299001227 >. DOI: 10.1016/s0006-2952(99)00122-7.

DECOURTYE, A.; LACASSIE, E.; PHAM-DELÈGUE, M. H. Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. **Pest Management Science**, v. 59, n. 3, p. 269–278. 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.631>. DOI: 10.1002/ps.631.

DECOURTYE, A.; ARMENGAUD, C.; RENOU, M.; DEVILLERS, J.; CLUZEAU, S.; GAUTHIER, M.; PHAM-DELÈGUE, M-H. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 78, p. 83-92. 2004a. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/232607246_Decourtye_A_Armengaud_C_Renou_M_Gauthier_M_and_Pham-Delegue_MH_2004_Imodacloprid_impairs_memory_and_brain_metabolism_in_the_honeybee_Apis_mellifera_L_Pest_Biochem_Physiol_78_83-92>. DOI: 10.1016/j.pestbp.2003.10.001.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J.; CLUZEAU, S.; CHARRETON, M.; PHAM-DELÈGUE, M.H. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semifield and laboratory conditions. **Ecotoxicological and Environment Safety**, v. 57, n. 3, p. 410-419. 2004b. Disponível em: <https://www.researchgate.net/ publication/8660093_Effects_of_Imidacloprid_and_deltamethrin_on_associative_learning_in_honeybees_under_semi-field_and_laboratory_conditions>. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.001.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J.; GENECQUE, E.; LE MENACH, K.; BUDZINSKI, H.; CLUZEAU, S.; PHAM-DELÈGUE, M-H. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, n. 2, p. 242-250. 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-003-0262-7>. DOI: 10.1007/s00244-003-0262-7.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J. Ecotoxicology of neonicotinoids insecticides in the bees. In: THANY, S. (ed.) **Insect nicotinic acetylcholine receptors**. St. Austin: Landes Bioscience. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/45950073_Ecotoxicity_of_Neonicotinoid_Insecticides_to_Bees>. DOI: 10.1007/978-1-4419-6445-8_8.

DECOURTYE, A.; MADER, E.; DESNEUX, N. Landscape enhancement of floral resources for honeybees in agro-ecosystems. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 264-277. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/46421163_Decourtye_A_E_Mader_and_N_Desneux_Landscape_enhancement_of_floral_resources_for_honey_bees_in_agroecosystems_Apidologie>. DOI: 10.1051/apido/2010024.

DEFRA – DEPARTMENT FOR ENVIRONMENT FOOD AND RURAL AFFAIRS. Assessment of the risk posed to honeybees by systemic pesticides. PS2322, CSLYork, UK. 2007. Disponível em: <http://randd.defra.gov.uk/Default.aspx?Menu=Menu&Module=More&Location=None&Completed=0&ProjectID=13502>.

DEFRA – DEPARTMENT FOR ENVIRONMENT FOOD AND RURAL AFFAIRS. Intermittent exposure in terrestrial invertebrates - a case study with honeybees. PS2341, CSLYork, UK. 2009. Disponível em: <http://randd.defra.gov.uk/Default.aspx?Menu=Menu&Module=More&Location=None&Completed=2&ProjectID=16133>.

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. Disponível em: <http://www.neurobiologie.fu-berlin.de/gruenewald/papers/deglise et al neuroscilett2002.pdf>. DOI: 10.1016/S0304-3940 (01)02400-4.

DELORENZO, M. E.; THOMPSON, B.; COOPER, E.; MOORE, J.; FULTON, M. H. A long-term monitoring study of chlorophyll, microbial contaminants and pesticides in a coastal residential stormwater pond and its adjacent tidal creek. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 1, p. 343-359. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/50401319_A_long-term_monitoring_study_of_chlorophyll_microbial_contaminants_and_pesticides_in_a_coastal_residential_stormwater_pond_and_its_adjacent_tidal_creek>. DOI: 10.1007/s10 661-011-1972-3.

DENNIS, B.; KEMP, W. P. How hives collapse: Allee Effects, Ecological Resilience, and the honey bee. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, p. 1-17. 2016. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0150055&type=printable>. DOI: 10.1371/journal.pone.0150055.

DERECKA, K.; BLYTHE, M. J.; MALLA, S.; GENEREUX, D. P.; GUFFANTI, A.; PAVAN, P.; MOLES, A.; SNART, C.; RYDER, T.; ORTORI, C. A.; BARRET, D. A.; SCHUSTER, E.; STÖGER, R. Transient exposure to low levels of insecticide affects metabolic networks of honeybee larvae. **PLoS One**, v. 8, n. 7, e68191. p. 1-11. 2013. Disponível em: <http://journals. plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0068191>. DOI: 10.1371/journal.pone.0068191.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J-M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 81-106. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/6943756_The_Sublethal_Effects_of_Pesticides_on_Beneficial_Arthropods>. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440.

DETZEL, A.; WINK, M. Attraction, deterrence or intoxication of bees (*Apis mellifera*) by plant allelochemicals. **Chemoecology**, v. 4, n. 1, p. 8-18. 1993. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01245891>. DOI: 10.1007/ bf01245891.

DI PRISCO, G.; CAVALIERE, V.; ANNOSCIA, D.; VARRICCHIO, P.; CAPRIO, E.; NAZZI, F.; GARGIULO, G.; PENNACCHIO, F. Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honeybees. **Procedures of the National Academy of Science USA**, v. 110, n. 46, p. 18466-18471. 2013. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/110/46/18466.full.pdf?with-ds=yes>. DOI: 10.1073/pnas.1314923110.

DÍAZ, S.; DEMISSEW, S.; CARABIAS, J.; JOLY, C.; LONSDALE, M.; ASH, N.; LARIGAUDERIE, A.; ADHIKARI, J. R.; ARICO, S.; BÁLDI, A.; BARTUSKA, A.; BASTE, I. A.; BILGIN, A.; BRONDIZIO, E.; CHAN, K. M.; FIGUEROA, V. E.; ANANTHA DURAIAPPAH, A.; FISCHER, M.; ROSEMARY HILL, R.; KOETZ, T.; LEADLEY, P.; LYVER, P.; MACE, G. M.; MARTIN-LOPEZ, B.; OKUMURA, M.; PACHECO, D.; PASCUAL, U.; PÉREZ, E. S.; REYERS, B.; ROTH, E.; SAITO, O.; SCHOLES, R. J.; SHARMA, N.; TALLIS, H.; THAMAN, R.; WATSON, R.; YAHARA, T.; HAMID, Z. A.; AKOSIM, C.; AL-HAFEDH, Y.; ALLAHVERDIYEV, R.; AMANKWAH, E.; ASAH, S. T.; ASFAW, Z.; BARTUS, G.; BROOKS, L.; CAILLAUX, J.; DALLE, G.; DARNAEDI, D.; DRIVER, A.; ERPUL, G.; ESCOBAR-EYZAGUIRRE, P.; FAILLER, P.; FOUDA, A. M. M.; FU, B.; GUNDIMEDA, H.; HASHIMOTO, S.; HOMER, F.; LAVOREL, S.; LICHTENSTEIN, G.; MALA, W. A.; MANDIVENYI, W.; MATCZAK, P.; MBIZVO, C.; MEHRDADI, M..; METZGER, J. P.; MIKISSA, J. B.; MOLLER, H.; MOONEY, H. A.; MUMBY, P.; NAGENDRA, H.; NESSHOVER, C.; OTENG-YEBOAH, A. A.; PATAKI, G.; ROUÉ, M.; RUBIS, J.; SCHULTZ, M.; SMITH, P.; SUMAILA, R.; TAKEUCHI, K.; THOMAS, S.; VERMA, M.; YEO-CHANG, Y.; ZLATANOVA, D. The IPBES conceptual framework: connecting nature and people. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 14, n. 1, p. 1-16. 2015. Disponível em: <http://www.ipbes.net/sites/default/files/downloads/pdf/Diaz_et_al._2015_IPBESConceptualFramework.pdf>. DOI: 10.1016/j.cosust.2014.11.002.

DIVELY, G.; HOOKS, C. Use patterns of neonicotinoid insecticides on cucurbit crops and their potential exposure to honey bees. **Progress Report. Strategic Agricultural Initiative Grants Program**. EPA Region 3. 2009. Disponível em: <http://entomology.umd.edu/uploads/4/4/1/3/44130801/2009_report_residue_results.pdf>.

DOUGLAS, M. R.; TOOKER, J. F. Large scale deployment of seed treatments has driven rapid increase in use of neonitinoids insecticides and preemptive pest management in US field crops. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 8, p. 5088-5097. 2015. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es506141g>.

DRUCKREY, H.; KÜPFMÜLLER, K. **Dosis und Wirkung**. Beiträge zur theoretischen Pharmakologie. Freiburg im Breisgau: Editio Cantor GmbH, 1949. 131 p. Disponível em: <https://www.boerenlandvogels.nl/content/dosis-und-wirkung-–-beiträge-zur-theoretischen-pharmakologie-1949-von-hermann-druckrey-und-k>.

DUPONT, G. **Les abeilles malades de l'homme**. In: Le Monde, Paris, France. 2007. Disponível em: <https://www.lemonde.fr/planete/article/2007/08/29/les-abeilles-malades-de-l-homme_948835_3244.html>.

DUPUIS, J. P.; GAUTHIER, M.; RAYMOND-DELPECH, V. Expression patterns of nicotinic subunits alpha 2, alpha 7, alpha 8, and beta 1 affect the kinetics and pharmacology of ACh-induced currents in adult bee olfactory neuropiles. **Journal of Neurophysiology**, v. 106, n. 4, p. 1604-1613. 2011. Disponível em: <http://jn.physiology.org/content/106/4/1604>. DOI: 10.1152/jn.00126.2011.

EASAC - EUROPEAN ACADEMIES SCIENCE ADVISORY COUNCIL. **Ecosystem services, agriculture and neonicotinoids**. Leopoldina: German National Academy of Science, 2015. p. 1, 2, 7, 11-13. 62p.

EC – EUROPEAN COMMISSION. Impact assessment. 2013. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52013SC0169&from=en>

EC – EUROPEAN COMMISSION. Regulations to further restrict the uses for clothianidin, imidacloprid and thiamethoxam. 2018. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/approval_active_substances/approval_renewal/neonicotinoids_en>.

EDWARDS, P. J.; WRATTEN, S. D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo: EPU, 1981. (Temas de Biologia, 27). 71p.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. EFSA initiates pan-European research project on bee decline. **EFSA News**, 19 December 2008. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/amu081219>.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Statement on the findings in recent studies investigating sub-lethal effects in bees of some neonicotinoids in consideration of the uses currently authorised in Europe. **EFSA Journal**, v. 10, n. 6, p. 2752-2779, 27p. 2012. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/2752.pdf>. DOI: 10.2930/j.efsa.2012.2752.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin. **EFSA Journal**, v. 11, n. 1, e. 3066. 58p. 2013a. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2013.3066/epdf>. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3066.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam. **EFSA Journal**, v. 11, n. 1, e. 3067. 68p. 2013b. Disponível em: <http://onlinebrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2013.3067/epdf>. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3067.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid. **EFSA Journal**, v. 11, n. 1, e. 3068. 55p. 2013c. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2013.3068/epdf>. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3068.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin considering all uses other than seed treatments and granules. **EFSA Journal**, v. 13, n. 8, e. 4210, 77p. 2015a. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4210>. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4210.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam considering all uses other than seed treatments and granules. **EFSA Journal**, v. 13, n. 8, e. 4212, 70p. 2015b. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4212>. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4212.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid considering all uses other than seed treatments and granules. **EFSA Journal**, v. 13, n. 8, e. 4211, 82p. 2015c. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4211>. Acesso em: 22 abr. 2017. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4211.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for the active substance imidacloprid in light of confirmatory data submitted. **EFSA Journal**, v. 14, n. 11, e. 4607, 39 p. 2016a. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4607/epdf>. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4607.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for the active substance clothianidin in light of confirmatory data submitted. **EFSA Journal**, v. 14, n. 11, e. 4606, 34 p. 2016b. Disponível em: <http://onlinelibr ary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4606/epdf>. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4606.

EL HASSANI, A. K.; DACHER, M.; GAUTHIER, M.; ARMENGAUD, C. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 82, n. 1, p. 30-39. 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305705002418>. DOI: 10.1016/j.pbb.2005.07.008.

EL HASSANI, A. K.; DACHER, M.; GARY, V.; LAMBIN, M.; GAUTHIER, M.; ARMENGAUD, C. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, p. 653-661. 2008. Disponível em: <https://iees-paris.ufr918.upmc.fr/images/publi/72c1ad3607482f918cd912feec69e751.pdf>. DOI: 10.1007/s00244-007-9071-8.

EL HASSANI, A. K.; DUPUIS, J. P.; GAUTHIER, M.; ARMENGAUD, C. Glutamatergic and GABAergic effects of fipronil on olfactory learning and memory in the honeybee. **Invertebrate Neuroscience**, v. 9, n. 2, p. 91-100. 2009. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10158-009-0092-z>. DOI: 10.1007/s10158-009-0092-z.

ELLIS, J. D.; EVANS, J. D.; PETTIS, J. Colony losses, managed colony population decline and colony collapse disorder in the United States. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 1, p. 134-136. 2010. Disponível em: <http://naldc.nal.usda.gov/download/41836/PDF>. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.30.

ENFISA – Encontro de Fiscalização e Seminário sobre Agrotóxicos. 2015. Disponível em: <http://www.crea-se.org.br/enfisa-2015-crea-se-participa-de-debates-sobre-uso-de-agrotoxicos-e-falsificacao-de-defensivos/>.

ENTINE, J. Science Collapse Disorder – The real story behind neonics and mass bee deaths. **Forbes**, Apr. 11, 2013. Disponível em: <http://onforb.es/10Xh5Il>.

ENTINE, J. The bee apocalypse was never real; here's why. **American Council on Science and Health**, Apr. 17, 2018. Disponível em: <https://www.acsh.org/news/2018/04/17/bee-apocalypse-was-never-real-heres-why-12851>.

EPPO – EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANISM. Guideline on test methods for evaluating the side-effects of plant protection products on honeybees. **EPPO Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 313–319. 2010a. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwj6sd_DzfbSAhUIlpAKHf3ZDpoQFggzMAI&url=https%3A%2F%2Fpp1.eppo.int%2Fdownpdf.php5%3Fid%3D1a90975b05372936ea08a099d578121dle&usg=AFQjCNGa8zfJzQoTCMA2cATt07IzEnONkQ>.

EPPO – EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANISM. Environmental risk assessment on honeybees. **EPPO Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 323–331. 2010b. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwj6sd_DzfbSAhUIlpAKHf3ZDpoQFggzMAI&url=https%3A%2F%2Fpp1.eppo.int%2Fdownpdf.php5%3Fid=1a90975b05372936ea08a099d578121dle&usg=AFQjCNGa8zfJzQoTCMA2cATt07IzEnONkQ>.

FAGIN, D. Toxicology: The learning curve. **Nature**, v. 490, n. 7421, p. 462-465. 2012. Disponível em: <http://www.nature.com/news/toxicology-the-learning-curve-1.11644>. DOI: 10.1038/490462a.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Protecting the pollinators. 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/magazine/0512sp1.htm>.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. How to feed the world in 2050. 2010. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf>.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Bee products: providing nutrition and generating income – Honey bees, beekeeping and bee products in our daily. 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/fsnforum/forum/discussions/beekeeping>.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Ecosystem services and biodiversity. 2016a. Disponível em: <http://www.fao.org/ecosystem-services-biodiversity/background/regulating-services/en/>.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Pollinators vital to our food supply under threat 2016b. Disponível em: <http://www.fao.org/news/story/pt/item/384726/icode/>.

FAROOQUI, T. A potential link among biogenic amines based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. **Neurochemistry International**, v. 62, n. 1, p. 122-136. 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197018612003051>. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.09.020.

FAUCON J-P.; AURIÈRES, C.; DRAJNUDEL, P.; MATHIEU, L.; RIBIÈRE, M.; MARTEL, A-C.; ZAGGANE, S.; CHAUZAT, M-P.; AUBERT, M. F. A. Experimental study on the toxicity of imidacloprid given in syrup to honey bee (*Apis mellifera*) colonies. **Pesticide Management Science**, v. 61, n. 2, p. 111-125. 2005. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.957/pdf>. DOI: 10.1002/ps.957.

FELTHAM, H.; PARK, K.; GOULSON, D. Field realistic doses of pesticide imidacloprid reduce bumblebee pollen foraging efficiency. **Ecotoxicology**, v. 37, n. 3, p. 301-308. 2014. Disponível em: <http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/Feltham_ea_2014_imidacloprid_bumblebees_0.pdf>. DOI: 10.1007/s10646-014-1189-7.

FISCHER, J.; MÜLLER, T.; SPATZ, A-K.; GREGGERS, U.; GRÜNEVALD, B.; MENZEL, R. Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees. **PLoS One**, v. 9, n. 3, e91364, p. 1-10. 2014. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0091364>. DOI: 10.1371/journal.pone.009 pone.0091364.

FLORENTINO, H. O.; BISCARO, A. F. V.; PASSOS, J. R. S. Sigmoidal functions applied in the determination of specific methanogenic activity – SMA. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 29, n. 1, p. 141-150. 2010. Disponível em: <https://acervodigital.unesp.br/handle/11449/140331>.

FORD, K. A.; CASIDA, J. E. Unique and common metabolites of thiamethoxam, clothianidin, and dinotefuran in mice. **Chemical Residues & Toxicology**, v. 19, n. 11, p. 1549-1556. 2006. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/tx0601859>. DOI: 10.1021/tx0601859.

FORFERT, N.; MORITZ, R. F. A. Thiacloprid alters social interactions among honey be workers (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 4, p. 467-474. 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00218839.2017.1332542?journalCode=tjar20>. DOI: 10.1080/00218839.2017.1332542.

FRANKLIN, M. T.; WINSTON, M. L.; MORANDIN, L. A. Effects of clothianidin on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) colony health and foraging behaviour. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 2, p. 369-373. 2004. Disponível em: <http://cues.cfans.umn.edu/old/pollinators/pdf-BBfor/2004FranklinMoradin.pdf>. DOI: 10.1093/jee/97.2.369.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. **Polinizadores e Pesticidas: princípios e manejo para os agro ecossistemas brasileiros**. Brasília: MMA, 2012. 112 p.

FRÜND, J.; DORMANN, C. F.; HOLZSCHUH, A.; TSCHARNTKE, T. Bee diversity effects on pollination depend on functional complementary and niche shifts. **Ecology**, v. 94, n. 9, p. 2042-2054. 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1890/12-1620.1/epdf>. DOI: 10.1890/12-1620.1.

FURLAN, L.; KREUTZWEISER, D. P. Alternatives to neonicotinoid insecticides for pest control: case studies in agriculture and forestry. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 135-147. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-014-3628-7>. DOI: 10.1007/s11356-014-3628-7.

FURLAN, L.; POZZEBON, A.; DUSO, C.; SIMON-DELSO, N.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; MARCHAND, P. A.; CODATO, F.; VAN LEXMOND, M. B.; BONMATIN, J-M. Alternatives to systemic insecticides. Part 3. In: An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n.254, p. 1-23. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11356-017-1052-5.pdf>. DOI: 10.1007/S11356-017-1052-5.

GAUTHIER, M. State of the art on insect nicotinic acetylcholine receptor function in learning and memory. In: THANY, S. **Insect nicotinic acetylcholine receptors**. New York: Springer, 2010. p. 97-115. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-6445-8_9>. DOI: 10.1007/978-1-4419-6445-8_9.

GAWLETA, N.; ZIMMERMANN, Y.; ELTZ, T. Repellent foraging scent recognition across bee families. **Apidologie**, v. 36, n. 3, p. 325-330. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/apido:2005018>. DOI: 10.1051/apido:2005012005018.

GEOFFREY, W.; TARPY, D. R.; VANENGELSDORP, D.; CHAUZAT, M-P.; COX-FOSTER, D. L.; DELAPLANE, K. S.; NEUMANN, P.; PETTIS, J. S.; ROGERS, R. E. L.; SHUTLER, D. Colony collapse disorder in context. **Bioessays**, v. 32, n. 10, p. 845-846. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/bies.201000075>. DOI: 10.1002/bies.201000075.

GEWEHR, M. **Pesticidal mixtures**. European Patent: EP2481284A2. 2012. Disponível em: <https://data.epo.org/publicationserver/rest/v1.0/publicationdates/20120801/patents/EP2481284NWA2/document.pdf>.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. Journal of Economic Entomology, v. 108, n. 3, p. 1-9. 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/275892483_The_Dependence_of_Crops_for_Pollinators_and_the_Economic_Value_of_Pollination_in_Brazil>. DOI: 10.1093/jee/tov093.

GIBBONS, D.; MORRISEY, C.; MINEAU, P. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 103-118. 2014. Disponível em: <http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/Gibbonsetal2014.pdf>. DOI: 10.1007/s11356-014-3180-5.

GILL, R. J.; RAMOS-RODRIGUES, O.; RAINE, N. E. Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. **Nature**, v. 491, n. 7422, p. 105-108. 2012. Disponível em: <http://www.nature.com/nature/journal/v491/n7422/pdf/nature11585.pdf>. DOI: 10.1038/nature11585.

GIORIO, C.; SAFER, A.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; TAPPARO, A.; LENTOLA, A.; GIROLAMI, V.; VAN LEXMOND, M. B.; BONMATIN, J-M. An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 1: new molecules, metabolism, fate and transport. **Environmental Science and Pollution Research**, *online*. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11356-017-0394-3.pdf>. DOI: 10.1007/s11356-017-0394-3.

GIROLAMI, V.; MAZZON, L.; SQUARTINI, A.; MORI, N.; MARZARO, M.; DI BERNARDO, A.; GREATTI, M.; GIORIO, C.; TAPPARO, A. Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 5, p. 1808-1815. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/38064476_Translocation_of_Neonicotinoid_Insecticides_From_Coated_Seeds_to_Seedling_Guttation_Drops_A_Novel_Way_of_Intoxication_for_Bees>. DOI: 10.1603/029.102.0511.

GIROLAMI, V.; MARZARO, M.; VIVIAN, L.; MAZZON, L.; GREATTI, M.; GIORIO, C.; MARTON, D.; TAPPARO, A. Fatal powdering of bees in flight with particulates of neonicotinoids seed coating and humidity implication. **Journal of Applied Entomology**, v. 136, n. 1-2, p. 17-26. 2012. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0418.2011.01648.x/pdf>. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2011.01648.x.

GIURFA, M. The repellent scent-mark of the honeybee *Apis mellifera ligustica* and its role as communication cue during foraging. **Insectes Sociaux**, v. 40, n. 1, p. 59-67. 1993. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF01338832>. DOI: 10.1007/bf01338832.

GOBELI, A.; CROSSLEY II, D.; JOHNSON, J.; REYNA, K. The effects of neonicotinoid exposure on embryonic development and organ mass in northern bobwhite quail (Colinus virginianus). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 195, n. 5, p. 9-15. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1532045617300303?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.cbpc.2017.02.001.

GODFRAY, H. C. J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, L. M.; HAILS, R. S.; PETROKOFSKY, G.; POTTS, S. G.; RAINE, N. E.; VANBERGEN, A. J.; MCLEAN, A. R. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 281, n. 1786, p. 1-9. 2014. Disponível em: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/royprsb/281/1786/20140558.full.pdf>. DOI: 10.1098/rspb.2014.0558.

GODFRAY, H. C. J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, L. M.; HAILS, R. S.; PETROKOFSKY, G.; POTTS, S. G.; RAINE, N. E.; VANBERGEN, A. J.; MCLEAN, A. R. A restatement of recent advances in the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 282, n. 1818, p. 1-6. 2015. Disponível em: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/royprsb/282/1818/20151821.full.pdf>. DOI: 10.1098/rspb.2015.1821.

GODINHO, A.; SOUZA, A.; CARVALHO, C.; HORTA, D.; DE FRAIA, D.; ANSELMO, F.; CHAGURI, J.; FARIA, C. Memory impairment due to fipronil pesticide exposure occurs at the GABA(A) receptor level, in rats. **Physiology and Behavior**, v. 165, n. 6, p. 28-34. 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938416304723?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/physbeh.2016.06.035.

GODOY-NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E. A química supramolecular de complexos pirazólicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1208-1217. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422008000500050&lng=p& nrm=iso>. DOI: 10.1590/S0100-40422008000500050.

GONÇALVES, L. S. O Desaparecimento das abelhas, suas causas, consequências e o risco dos Neonicotinóides para o Agronegócio. **Mensagem Doce,** n. 117, p. 2-12. 2012a. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/117/artigo1.htm>.

GONÇALVES, L. S. Consequências do Desaparecimento (*CCD*) das Abelhas no Agronegócio Apícola Internacional e em especial no Brasil. **Anais do X Encontro sobre Abelhas de Ribeirão Preto** (em CD), p. 24-25. 2012b.

GONÇALVES, L. S. O uso dos pesticidas sistêmicos no combate às pragas e seus reflexos nas abelhas: campanha de proteção às abelhas e o aplicativo *Bee Alert*. **Libro de Resúmenes del XI Congreso Latinoamericano de Apicultura - FILAPI**. Puerto Iguazu-Misiones, Argentina, 03 a 06 de setembro 2014, p.15.

GONÇALVES, L. S. Petição pela Proteção às Abelhas, Dossiê da Campanha "SEM ABELHA SEM ALIMENTO", da Organização BEE OR NOT TO BEE, que relata os resultados aferidos pelo aplicativo BEE ALERT. 2015.

GONÇALVES, L. S.; CASTILHOS, D. O impacto causado na apicultura e meliponicultura pelo uso indiscriminado de pesticidas, identificado pelo aplicativo Bee Alert e o declínio dos polinizadores (abelhas) no Brasil. In: XI ENCONTRO SOBRE ABELHAS. Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Anais do**… Ribeirão Preto, USP-RP, p. 60. 2015a.

GONÇALVES, L. S.; CASTILHOS, D. Application of the electronic device "BEE ALERT" for registering death of honey bees, stingless bees in general and disappearance of honey bees (*CCD*) in Brazil. In: INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS, 44. 2015. Daejeon, Korea. Scientific Program Abstracts. **Annals of**… Daejeon: Apimondia, p. 218. 2015b.

GONÇALVES, L. S. Audiência Pública – Assembleia Legislativa do Estado de São Paulo. Projeto de Lei nº. 405/2016 – Proibição do uso de pulverização aérea no Estado de São Paulo, Projeto de Lei nº. 406/2016 – Proibição do uso dos agrotóxicos imidaclopride, tiametoxam e clotianidina e seus derivados no Estado de São Paulo. 06 mar. 2017. Disponível em: <http://www.al.sp.gov.br/noticia/?id=377046&textoBusca=audiencia;publica&flRealca=T>.

GOOGLE EARTH – *Software* de Geolocalização. Versão livre: 7.1.7.2602. 2017. Disponível em: <https://www.google.com.br/earth/download/ge/agree.html>.

GOULSON, D. Effects of introduced bees on native ecosystems. **Annual Review of Ecological Evolution Systems**, v. 34, n. 1, p. 1-26. 2003. Disponível em: <https://www.sussex.ac.uk/webteam/gateway/file.php?name=goulson-ann-rev-ecol-syst-2003.pdf&site=411>. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132355.

GOULSON, D. **Bumblebees: behaviour, ecology and conservation**. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2010. 330 p. Disponível em: <https://archive.org/details/Bumblebees-Behaviour_Ecology_and_Conservation>.

GOULSON, D. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, n. 4, p. 977-987. 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.12111/epdf>. DOI: 10:1111/1365-2664.12111.

GOULSON, D.; CHAPMAN, J. W.; HUGHES W. O. H. Discrimination of unrewarding flowers by bees; direct detection of rewards and use of repellent scent marks. **Journal of Insect Behavior**, v. 14, n. 5, p. 669-678. 2001. Disponível em: <https://www.sussex.ac.uk/webteam/gateway/file.php?name=goulson-et-al-2001-scent-marks.pdf&site=398>. DOI: 10.1023/a:1012231419067.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTÍAS, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, e1255957, p. 1-16. 2015. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/347/6229/1255957>. DOI: 10.1126/science.1255957.

GRADISH, A. E.; SCOTT-DUPREE, C. D.; SHIPP, L.; HARRIS, C. R.; FERGUSON, G. Effect of reduced risk pesticides for use in greenhouse vegetable production on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae). **Pest Management Science**, v. 66, n. 2, p. 142-146. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/26815288_Effect_of_reduced_risk_pesticides_for_use_in_greenhouse_vegetable_production_on_Bombus_impatiens_Hymenoptera_Apidae>. DOI: 10.1002/ps.1846.

GRAYSTOCK, P.; YATES, K.; DARVILL, B.; GOULSON, D.; HUGHES, W. O. H. Emerging dangers: deadly effects of an emergent parasite in a new pollinator host. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 114, n. 2, p. 114-119. 2013a. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201113000931>. DOI: 10.1016/j.jip.2013.06.005.

GRAYSTOCK, P.; YATES, K.; EVISON, S. E. F.; DARVILL, B.; GOULSON, D.; HUGHES, W. O. H. The Trojan hives: pollinator pathogens imported and distributed in bumblebee colonies. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, n. 5, p. 1207-1215. 2013b. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.12134/epdf>. DOI: 10.1111/1365-2664.12134.

GREATTI, M.; SABATINI, A. G.; BARBATTINI, R.; ROSSI, S.; STRAVISI, A. Risk of environmental contamination by the active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing. Preliminary results. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 69-72. 2003. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol56-2003-069-072greatti.pdf>.

GREENLEAF, S.; KREMEN, C. Wild bees enhance honeybees' pollination of hybrid sunflower. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 103, n. 37, p. 13890-13895. 2006. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/103/37/13890.full.pdf>. DOI: 10.1073/pnas.0600929103.

GREGORC, A.; ELLIS, J. D. Cell death localization in situ in laboratory reared honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n. 2, p. 200-207. 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228648983_Cell_death_localization_in_situ_in_laboratory_reared_honey_bee_Apis_mellifera_L_larvae_treated_with_pesticides>. DOI: 10.1016/j.pestbp.2010.12.005.

GRIPP, H. S.; FREITAS, J. S.; ALMEIDA, E. A.; BISINOTI, M. C.; MOREIRA, A. B. Biochemical effects of fipronil and its metabolites on lipid peroxidation and enzymatic antioxidant defense in tadpoles (*Eupemphix nattereri*: Leiuperidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 136, p. 173-179. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.027>.

GROSS, M. Pesticides linked to bee deaths. **Current Biology**, v. 18, n. 16, p. 684. 2008. Disponível em: <http://www.cell.com/currentbiology/fulltext/S0960-9822(08)01040-3>. DOI: 10.1016/j.cub.2008.08.004.

GUEZ, D.; SUCHAIL, S.; GAUTHIER, M.; MALESZKA, R.; BELZUNCES, L. P. Contrasting effects of imidacloprid on habituation in 7- and 8-day-old honeybees (*Apis mellifera*). **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 76, n. 2, p. 183-191. 2001. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074742700939959>. DOI: 10.1006/nlme.2000.3995.

GUEZ, D.; BELZUNCES, L.P.; MALESZKA, R. Effects of imidacloprid metabolites on habituation in honeybees suggest the existence of two subtypes of nicotinic receptors differentially expressed during adult development. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 75, n. 1, p. 217-222. 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/10749801_Guez_D_L_P_Belzunces_and_R_Maleszka_Effects_of_Imidacloprid_metabolites_on_habituation_in_honeybees_suggest_the_existence_of_two_subtypes_of_nicotinic_receptors_differentially_expressed_during_adult_d>. DOI: 10.1016/s0091-3057(03)00070-4.

GUNASEKARA, A. S.; TRUONG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 3, p. 189-199. 2007. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/32/3/32_3_189/_pdf>. DOI: 10.1584/jpestics.r07-02.

HACKENBERG, D. Letter from David Hackenberg to American growers. Mar. 14, 2007. **Plattform Imkerinnen Austria**. Archived from the original on 2007-06-04. Disponível em: <http://www.imkerinnen.at/?Aktuelles:Internationale_Bieneninfos:Colony_Collapse_Disorder>.

HALM, M-P.; RORTAIS, A.; ARNAULD, G.; TASÉI, J. N.; RAULT, S. New risk assessment approach for systemic insecticides: the case of honey bees and imidacloprid (Gaucho). **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 2448-2454. 2006. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es051392i>. DOI: 10.1021/es051392i.

HAN, P.; NIU, C-Y.; LEI, C-L.; CUI, J-J.; DEXNEUX, N. Use of an innovative T-tube maze assay and the proboscis extension response assay to assess sublethal effects of GM products and pesticides on learning capacity of the honey bee *Apis mellifera* L. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 8, p. 1612-1619. 2010. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10646-010-0546-4>. DOI: 10.1007/s10646-010-0546-4.

HARGREAVES, T. Pesticides: keeping one step ahead. **Royal Society of Chemistry**. 2007. Disponível em: <http://www.rsc.org/education/eic/issues/2007May/Pesticides KeepingOneStepAhead.asp>.

HATFIELD, R.; JEPSON, S.; MADER, E.; BLACK, S. H.; SHEPHERD, M. **Conserving Bumble Bees**. Portland: The Xerxes Society for Invertebrate Conservation, 2012. p. 3. 34p.

HATJINA, F.; PAPAEFTHIMIOU, C.; CHARISTOS, L.; DOGAROGLU, T.; BOUGA, M.; EMMANOUIL, C.; ARNOLD, G. Sublethal doses of imidacloprid decreased size of hypopharyngeal glands and respiratory rhythm of honeybees in vivo. **Apidologie**, v. 44, n. 4, p. 467-480. 2013. Disponível em: <http://smallbluemarble.org.uk/wp-content/uploads/2013/03/Hatjina2013.pdf>. DOI: 10.1007/s13592-013-0199-4.

HENRY, M.; BEGUIN, M.; REQUIER, F.; ROLLIN, O.; ODOUX, J-F.; AUPINEL, P.; APTERL, J.; TCHAMITCHIAN, S.; DECOURTYE, A. A common pesticide decreases foraging success and survival in honeybees. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 348-350. 2012a. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/336/6079/348.full>. DOI: 10.1126/science.1215039.

HENRY, M.; BEGUIN, M.; REQUIER, F.; ROLLIN, O.; ODOUX, J-F.; AUPINEL, P.; APTERL, J.; TCHAMITCHIAN, S.; DECOURTYE, A. Response to comment on "A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees". **Science**, p. 337, n. 6101, p. 1453. 2012b. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/sci/337/6101/1453.3.full.pdf>. DOI: 10.1126/science.1224930.

HENRY, M.; BECHER, M. A.; OSBORNE, J. L.; KENNEDY, P. J.; AUPINEL, P.; BRETAGNOLLE, V.; BRUN, F.; GRIMM, V.; HORN, J.; REQUIER, F. Predictive systems models can help elucidate bee declines driven by multiple combined stressors. **Apidologie**, v. 11, n. 61, p. 1-12. 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13592-016-0476-0>. DOI: 10.1007/s13592-016-0476-0.

HESKETH, H.; LAHIVE, E.; HORTON, A. A.; ROBINSON, A. G.; SVENDESEN, C.; RORTAIS, A.; DORNE, J-L.; BAAS, J.; SPURGEON, D. J.; HEARD, M.S. Extending standard testing period in honeybees to predict lifespan impacts of pesticides and heavy metals using dynamic energy budget modelling. **Nature Scientific Reports**, v. 6, n. 37655, p. 1-12. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep37655.pdf>. DOI: 10.1038/srep37655.

HIGES, M.; MARTÍN-HERNÁNDEZ, R.; BOTÍAS, C.; BAILÓN, E. G.; GONZÁLEZ-PORTO, A. V.; BARRIOS, L.; DEL NOZAL, M. J.; BERNAL, J. L.; JIMÉNEZ, J. J.; PALENCIA, P. G.; MEANA, A. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 10, p. 2659-2669. 2008. Disponível em: <http://honeybee.org.au/pdf/Nosema_Ceranae_Environmental_Microbiology_2008.pdf>. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2008.01687.x.

HILL, A. B. The Environment and Disease: Association or Causation? **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 58, n. 5, p. 295-300. 1965. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1898525/pdf/procrsmed001960010.pdf>.

HLADIK, M. L.; KOLPIN, D. W. First national-scale reconnaissance of neonicotinoid insecticides in streams across the USA. **Environmental Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 12-20. 2015. Disponível em: <http://ca.water.usgs.gov/pubs/2015/HladikKolpin2015.pdf>. DOI: 10.1071/EN15061.

HLADIK, M. L.; FOCAZIO, M.; PUCKETT, C. Insecticides similar to nicotine found in about half of sampled streams across the United States. **USGS - United States Geological Services**. News Release. Aug. 18, 2015. Disponível em: <http://www.usgs.gov/newsroom/article.asp?ID =4300>.

HLADIK, M. L.; KOLPIN, D. W.; KUIVILA, K. M. Widespread occurrence of neonicotinoid insecticides in streams in a high corn and soybean producing region, USA. **Environmental Pollution**, v. 193, n. 10, p. 189-196. 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749114002802>. DOI: 10.1016/j.envpol.2014. 06.033.

HLADIK, M. L.; VANDEVER, M.; SMALLING, K. L. Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current-use pesticides. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 469-477. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969715308937>. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.10.077.

HOPPE, P. P.; SAFER, A.; AMARAL-ROGERS, V.; BONMATIN, J. M.; GOULSON, D.; MENZEL, R.; BAER, B. Effects of a neonicotinoid pesticide on honey bee colonies: a response to the field study by Pilling *et al*. (2013). **Environmental Sciences Europe**, v. 27, n. 1, p. 28-31. 2015. Disponível em: <http://doi.org/10.1186/s12302-015-0060-7>. DOI: 10.1186/s12302-015-0060-7.

HUANG, Z. Pollen nutrition affects honey bee stress resistance. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v. 5, n. 2, p. 175-189. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/229135314_Pollen_nutrition_affects_honey_bee_stress_resistance>. DOI: 10.1163/18749 8312x639568.

HUSETH, A. S.; GROVES, R. L. Environmental fate of soil applied neonicotinoid insecticides in an irrigated potato agroecosystem. **Plos One**, v. 9, n. 5, e97081, p. 1-11. 2014. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0097081.PDF>. DOI: 10.1371/jornal.pone.0097081.

HUSSAIN, A.; KHAN, M. F.; FAHEEM, M.; RANA, H. Toxicity of nitenpyram and neem leaf extract against earthworm. **International Journal of Biology and Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 581-585. 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/316239287_TOXICITY_OF_NITENPYRAM_AND_NEEM_LEAF_EXTRACT_AGAINST_EARTHWORM>.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos - Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil. 2014. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Avaliação de risco de agrotóxicos para insetos polinizadores e lacunas de conhecimento. 2017. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/noticias/noticias2017/nota_tecnica_avaliacao_de_risco_de_agrotoxicos.pdf>.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GONÇALVES, L. S.; FRANCOY, T. M.; NUNES-SILVA, P. Desaparecimento das abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e as perspectivas do uso de abelhas não melíferas na polinização. **Documento Embrapa Semiárido – online**, v.249, n. 2012, p. 214-227. 2012. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/public_eletronica/visualiza_publicacao.php?op=vitipo&modo=tipo&tipo=SDC>.

INCA – INSTITUTO NACIONAL DE COMBATE AO CÂNCER. Posicionamento do Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva acerca dos agrotóxicos. 2015. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/comunicacao/posicionamento_do_inca_sobre_os_agrotoxicos_06_abr_15.pdf>.

INFOESCOLA – Estrutura química da nicotina. Disponível em: <http://www.infoescola.com/wp-content/uploads/2010/06/nicotina.jpg>.

INPEV - INSTITUTO NACIONAL DE PROCESSAMENTO DE EMBALAGENS VAZIAS. Relatório de Sustentabilidade 2015. Destinação por estado. p. 20. Disponível em: <http://www.inpev.org.br/relatorio-sustentabilidade/2015/index.html>.

IPBES - INTERGOVERNMENTAL SCIENCE-POLICY PLATFORM ON BIODIVERSITY AND ECOSYSTEM SERVICES on pollinators, pollination and food production. Eds.: Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany, 2016. 36p.

ITURBURU, F. G.; ZÖMISCH, M.; PANZERI, A. M.; CRUPKIN, A. C.; CONTARDO-JARA, V.; PFLUGMACHER, S.; MENONE, M. L. Uptake, distribution in different tissues, and genotoxicity of imidacloprid in the freshwater fish *Australoheros facetus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 3, p. 699-708. 2017. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.3574/epdf>. DOI: 10.1002/etc.3574.

IWASA, T.; MOTOYAMA, N.; AMBROSE, J. T.; ROE, R. M. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honeybee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, v. 23, n. 5, p. 371-378. 2004. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219403002308>. DOI: 10.1016/j.cropro.2003.08.018.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012. 2009. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol32No499630-RV080 89.pdf>. DOI: 10.1590/S0100-40422009000400031.

JESCHKE, P. Nicotinic acetylcholine receptors as a continuous source for rational insecticides. IN: ISHAAYA I.; NAUEN, R.; HOROWITZ, A. R. **Insecticides design using advanced technologies**. Berlin: Springer, 2007. p. 151-195. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-540-46907-0_7>. DOI: 10.1007/978-3-540-46907-0_7.

JESCHKE, P.; NAUEN, R. Neonicotinoids - from zero to hero in insecticide chemistry. **Pest Management Science**, v. 64, n. 11, p. 1084-1098. 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/23180090_Jeschke_P_Nauen_R_Neonicotinoids-from_zero_to_hero_in_insecticide_chemistry_Pest_Manag_Sci_64_10841098>. DOI: 10.1002/ps.1631.

JESCHKE, P.; NAUEN, R.; SCHINDLER, M.; ELBERT, A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 2897-2908. 2011. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf101303g>. DOI: 10.1021/jf101303g.

JOHNSON, R. Honey Bee Colony Collapse Disorder. **Congressional Research Service - Report for Congress**, Washington, 17 p. January 7, 2010. Disponível em: <http://www.fas.org/sgp/crs/misc/RL33938.pdf>.

JOHNSON, R. M.; ELLIS, M. D.; MULLIN, C. A.; FRAZIER, M. Pesticides and honey bee toxicity. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 312-331. 2010. Disponível em: <http://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/2010/03/m09141.pdf>. DOI: 10.1051/apido/2010018.

JOHNSON, R. M.; POLLOCK, H. S.; BERENBAUM, M. R. Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 2, p. 474-479. 2009. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/029.102.0202?journalCode=ecen>. DOI: 10.1603/029.102.0202.

KAIRO, G.; PROVOST, B.; TCHAMITCHIAN, S.; BEN ABDELKADER, F.; BONNET, M.; COUSIN, M.; SÉNÉCHAL, J.; BENET, P.; KRETZSCHMAR, A.; BELZUNCES, L. P. Drone exposure to the systemic insecticide fipronil indirectly impairs queen reproductive potential. **Scientific Reports**, v. 6, n. 31904, p. 1-12. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih. gov/pmc/articles/PMC4994044/pdf/srep31904.pdf>. DOI: 10.1038/srep31904.

KAIRO, G.; POQUET, Y.; HAJI, H.; TCHAMITCHIAN, S.; COUSIN, M.; BONNET, M.; PELISSIER, M.; KRETZSCHMAR, A.; BELZUNCES, L-P.; BRUNET, J-L. Assessment of the toxic effect of pesticides on honey bee drone fertility using laboratory and semifield approaches: a case study of fipronil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 9, p. 2345-2351. 2017a. Disponível em: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.3773>. DOI: 10.1002/etc.3773.

KAIRO, G.; BIRON, D. G.; FATEN, B. A.; BONNET, M.; TCHAMITCHIAN, S.; COUSIN, M.; DUSSAUBAT, C.; BENOIT, B.; KRESTZCHMAR, A. BELZUNCES, L. P.; BRUNET, J-L. Nosema ceranae, fipronil and their combination compromise honey bee reproduction via changes in male physiology. **Scientific Reports**, v. 7, n. 8556, p. 1-14. 2017b. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5561069/pdf/41598_2017_Article_8380.pdf>. DOI: 10.1038/s41598-017-08380-5.

KATHER, R.; DRIJFHOUT, F. P.; MARTIN, S. J. Task group differences in cuticular lipids in the honeybee *Apis mellifera*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 2, p. 205-212. 2011. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10886-011-9909-4>. DOI: 10.1007/s10886-011-9909-4.

KEGLEY, S. E.; HILL, B. R.; ORME S.; CHOI A. H. Fipronil. In: **PAN Pesticide Database**. Pesticide Action Network: Oakland, 2016. Disponível em: <http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC35768>.

KEVAN, P. G. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, n. 1-3, p. 373-393. 1999. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.465.3924&rep=rep1&type=pdf>. DOI: 10.1016/S0167-8809(99)00044-4.

KHALIL, S. R.; AWAD, A.; MOHAMMED, H. H. Behavioral response and gene expression changes in fipronil-administered male Japanese quail (Coturnix japonica). **Environmental Pollution**, v. 223, n. , p. 51-61. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116311125?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.12.027.

KILJANEK, T.; NIEWIADOWSKA, A.; GAWEŁ, M.; SEMENIUK, S.; BORZĘCKA, M.; POSYNIAK, A.; POHORECKA, K. Multiple pesticide residues in live and poisoned honeybees - Preliminary exposure assessment. **Chemosphere**, v. 175, n. 5, p. 36-44. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517302060?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.028.

KLEIN, A-M.; VAISSIÈRE, B. E.; CANE, J. E.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 274, n. 1608, p. 303-313. 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1702377/pdf/rspb20063721.pdf>. DOI: 10.1098/rspb.2006.3721.

KLUSER, S.; NEUMANN, P.; CHAUZAT, M-P.; PETTIS, J. S. Global honeybee colony disorder and other threats to insect pollinators. 2010. Disponível em: <http://www.unep.org/archive-ouverte.unige.ch/unige:32251>.

KNIGHT, M. E.; MARTIN, A. P.; BISHOP, S.; OSBORNE, J. L. HALE, R. J.; SANDERSON, R. A.; GOULSON, D. An interspecific comparison of foraging range and nest density of four bumblebee (*Bombus*) species. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 6, p. 1811-1820. 2005. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-294X.2005.02540.x/pdf>. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2005.02540.x.

KÖHLER, H-R.; TRIEBSKORN, R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? **Science**, v. 341, n. 6147, p. 759-765. 2013. Disponível em: <http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/2013KohlerandTriebskornScience.pdf>. DOI: 10.1126/science.1237591.

KOLLMEYER, W. D.; FLATTUM, R. F.; FOSTER, J. P.; POWELL, J. E.; SCHROEDER, M. E.; SOLOWAY, S. B. Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides. In: YAMAMOTO, I.; CASIDA, J. **Nicotinoid insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor**. Tokyo: Springer, 1999. p. 71-89. 300 p. DOI: 10.1007/978-4-431-67933-2.

KREUTZWEISER, D.; BEALL, F.; WEBSTER, K.; THOMPSON, D.; CREED, I. Impacts and prognosis of natural resource development on aquatic biodiversity in Canada's boreal zone. **Environmental Reviews**, v. 21, n. 4, p. 227-259. 2013. Disponível em: <http://www.uwo.ca/biology/faculty/creed/PDFs/Journal%20Articles/069%20Kreuzweiser%20et%20al%202013%20-%20Impacts.pdf>. DOI: 10.1139/er-2013-0044.

KRUPKE, C. H.; HUNT, G. J.; EITZER, B. D.; ANDINO, G.; GIVEN, K. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, e29268, p. 1-8. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0029268&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0029268.

KRUPKE, C. H.; LONG, E. Y. Intersections between neonicotinoid seed treatments and honey bees. **Current Opinion in Insect Science**, v.10, p. 8-13. 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214574515000553>. DOI:10.1016/j.cois.2015.04.005.

KRUPKE, C. H.; HOLLAND, J. D.; LONG, E.Y.; EITZER, B. D. Planting of neonicotinoid-treated maize poses risks for honey bees and other non-target organisms over a wide area without consistent crop yield benefit. **Journal of Applied Ecology**, v. 54, n. 5, p. 1449-1458. 2017. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.12924/full>. DOI: 10.1111/1365-2664.12924.

LAMBERT, O.; PIROUX, M.; PUYO, S.; THORIN, C.; L'HOSTIS, M.; WIEST, L.; BULETÉ, A.; DELBAC, F.; POULIQUEN, H. Widespread occurrence of chemical residues in beehive matrices from apiaries located in different landscapes of western France. **PLoS ONE**, v.8, n. 6, e67007, p. 1-12. 2013. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0067007>. DOI:10.1371/journal.pone.0067007.

LAMBIN, M.; ARMENGAUD, C.; RAYMOND, S.; GAUTHIER, M. Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 48, n. 3, p. 129-134. 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/arch.1065>. DOI: 10.1002/arch.1065.

LAURINO, D.; PORPORATO, M.; PATETTA, A.; MANINO, A. Toxicity of neonicotinoids to honeybees. **Bulletin of Insectology**, v. 64, n. 1, p. 107-113. 2011. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol64-2011-107-113laurino.pdf>.

LAUTENBACH, S.; SEPPELT, R.; LIEBSCHER, J.; DORMANN, C. F. Spatial and temporal trends of global pollination benefits. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, e35954.2012, p. 1-16. 2012 Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371/journal.pone.0035954.PDF>. DOI: 10.1371/ journal.pone.0035954.

LAYCOCK, I.; LENTHALL, K. M.; BARRATT, A. T.; CRESSWELL, J. E. Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*). **Ecotoxicology**, v. 21, n. 7, p. 1937-1945. 2012a. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10646-012-0927-y>. DOI: 10.1007/s10646-012-0927-y.

LAYCOCK, I.; LENTHALL, K. M.; BARRATT, A. T.; CRESSWELL, J. E. Erratum to: Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*). **Ecotoxicology**, v. 21, n. 7, p. 1946. 2012b. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/225053246_Erratum_to_Effects_of_imidacloprid_a_neonicotinoid_pesticide_on_reproduction_in_worker_bumble_bees_Bombus_terrestris>. DOI: 10.1007/s10646-012-0927-y.

LESTER, B. Mystery of dying bees. **Cosmos Magazine *online***, ed. 16 abr. 2007. Disponível em: <http://archive.cosmosmagazine.com/features/mystery-dying-bees/>.

LIESS, M.; VON DER OHE, P. C. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. **Environmental Toxicology and Chemistry,** v. 24, n. 4, p. 954-965. 2005. Disponível em: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1897/03-652.1>. DOI: 10.1897/03-652.1.

LIESS, M.; FOIT, K.; BECKER, A.; HASSOLD, E.; DOLCIOTTI, I.; KATTWINKEL, M.; DUQUESNE, S. Culmination of low-dose pesticide effects. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 15, p. 8862-8868. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3781603/>. DOI: 10.1021/es401346d.

LLOYD, G. K.; WILLIAMS, M. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 292, n. 2, p. 461-467. 2000. Disponível em: <http://jpet.aspetjournals.org/content/292/2/461.full.pdf>.

LÓPEZ, J. H.; KRAINER, S.; ENGERT, A.; SCHUEHLY, W.; RIESSBERGER-GALLÉ, U.; CRAILSHEIM, K. Sublethal pesticide doses negatively affect survival and the cellular responses in American foulbrood-infected honeybee larvae. **Scientific Reports**, v. 7, n. 40853, p. 1-13. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep40853.pdf>. DOI: 10.1038/srep40853.

LÓPEZ-DOVAL, J. C.; MONTAGNER, C. C.; DE ALBURQUERQUE, A. F.; MOSCHINI-CARLOS, V.; UMBUZEIRO, G.; POMPÊO, M. Nutrients, emerging pollutants and pesticides in a tropical urban reservoir: spatial distributions and risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 575, n. 2, p. 1307-1324. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716321404>. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.210.

LU, C.; WARCHOL, K. M.; CALLAHAN, R. A. Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honeybees winterization before proceeding to colony collapse disorder. **Bulletin of Insectology**, v. 67, n. 1, p. 125-130. 2014. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol67-2014-125-130lu.pdf>.

LYDY, M.; BELDEN, J.; WHEELOCK, C.; HAMMOCK, B.; DENTON, D. Challenges in regulating pesticide mixtures. **Ecology and Society**, v. 9, n. 6, art. 1. 2004. Disponível em: <http://www.ecologyandsociety.org/vol9/iss6/art1/print.pdf>.

MAIA, U. M.; JAFFE, R.; CARVALHO, A. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Meliponicultura no Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 4, p. 327-333. 2015. Disponível em: <http://www.rbmv.com.br/pdf_artigos/18-12-2015_16-00RBMV%200162.pdf>.

MAINI, S.; MEDRZYCKI, P.; PORRINI, C. The puzzle of honeybee losses: a brief review. **Bulletin of Insectology**, v. 63, n. 1, p. 153-160. 2010. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol63-2010-153-160maini.pdf>.

MAISONNASSE, A.; LENOIR, J-C.; BESLAY, D.; CRAUSER, D.; LE CONTE, Y.; E-b-Ocimene, a volatile brood pheromone involved in social regulation in the honeybee colony (*Apis mellifera*). **PLoS One**, v. 5, n. 10, e13531. 2010. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0013531&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0013531.

MAJID, M. I. A. Review on organophosphate insecticides. **PRN Consult**, n. 2. 1995. Disponível em: <http://www.prn2.usm.my/mainsite/bulletin/1995/prn2.html#consult>.

MAJID, M. I. A. Review on organochlorine insecticides. **PRN Consult**, n. 10.1996. Disponível em: <http://www.prn2.usm.my/mainsite/bulletin/1996/prn10.html#consult>.

MAJID, M. I. A. Review on pyrethrins and synthetic pyrethroids insecticides. **PRN Consult**, n. 28. 2000. Disponível em: <http://www.prn2.usm.my/mainsite/bulletin/2000/prn28.html#consult>.

MALASPINA, O. Atualização e ações de monitoramento de ocorrências. Departamento de Biologia - Centro de Estudos de Insetos Sociais. Instituto de Biociências de Rio Claro, SP Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2014. 17p. Disponível em: <http://pt.slideshare.net/ApiculturaeAgricultura/07-osmar-malaspina-atualizaes-e-aes-de-monitoramentodasocorrnncias>.

MALASPINA, O.; SOUZA T. F. Reflexos das aplicações de agrotóxicos nos campos de cultivo para a apicultura brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 17 E MELIPONICULTURA, 3. **Anais eletrônicos...** Belo Horizonte, MG. 2008.

MALASPINA, O.; SOUZA, T. F.; ZACARIN, E. C. M. S.; CRUZ, A. S.; DE JESUS, D. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. In: ANAIS DO ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 8. **Anais eletrônicos...** Ribeirão Preto, 2008. p. 41-48. Disponível em: <http://www.academia.edu/893657/Olfactory_Information_Use_and_Guidance_of_Nestmates_To_Food_in_Stingless_Bees>.

MANZONE, M.; BALSARI, P.; MARUCCO, P.; TAMAGNONE, M. Potential external contamination of pneumatic seed drills during sowing of dressed maize seeds. **Pest Management Science**, v. 72, n. 7, p. 1302-1308. 2016. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.4148/full>. DOI: 10.1002/ps.4148.

MANZONE, M.; BALSARI, P.; MARUCCO, P.; TAMAGNONE, M. Dust drift reduction effect of an air conveyor kit (dual-pipe deflector) mounted on different maize pneumatic drills. **Pest Management Science**, v. 73, n. 3, p. 528-533. 2017. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.4302/full>. DOI: 10.1002/ps.4302.

MARRS T. C. Organophosphate poisoning. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 58, n. 1, p. 51-66. 1993. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016372589390066M>. DOI: 10.1016/0163-7258(93)90066-M.

MARZARO, M.; VIVAN, L.; TARGA, A.; MAZZON, L.; MORI, N.; GREATI, M.; TOFFOLO, E. P.; DI BERNARDO, A.; GIORIO, C.; MARTON, D.; TAPPARO, A.; GIROLAMI, V. Lethal aerial powdering of honeybees with neonicotinoids from fragments of maize seed coat. **Bulletin of Insectology**, v. 64, n. 1, p. 119–126. 2011. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol64-2011-119-126marzaro.pdf>.

MASON, R.; TENNEKES, H.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; JEPSEN, P. U. Immune suppression by neonicotinoid insecticides at the root of global wildlife declines. **Journal of Environmental Immunology and Toxicology**, v. 1, n. 1, p. 3-12. 2014. Disponível em: <http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/JEIT%20Immune%20Suppression%20pdf_6.pdf>. DOI: 10.7178/jeit.1.

MATIAS, R. S. Gerenciamento Sinantrópicos. História dos inseticidas. 2011. Disponível em: <http://matiassinantropicos.blogspot.com.br/2011/08/historia-dos-inseticidas.html>.

MATSUMOTO, T. Reduction in homing flights in the honeybee *Apis mellifera* after subletal dose of neonicotinoid insecticides. **Bulletin of Insectology**, v. 66, n. 1, p. 1-9. 2013. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol66-2013-001-009matsumoto.pdf>. ISSN: 1721-8861.

MAUS, C.; NAUEN, R. Response to the publication: TENNEKES, H.A. (2010): The significance of the Druckrey-Küpfmüller equation for risk assessment - the toxicity of neonicotinoid insecticides is reinforced by exposure time. **Toxicology**, v. 280, n. 3, p. 176-177. 2011. Disponível em: <http://www.farmlandbirds.net/sites/default/files/Maus_and_Nauen_2010_4.pdf>. DOI:10.1016/j.tox.2010.11.014.

MAUTE, K.; STORY, P.; HOSE, G. C.; BULL, C. M.; FRENCH, K. Application of fipronil (Adonis 3UL) and *Metarhizium acridum* for use against locusts have minimal effect on litter decomposition and microbial functional diversity in Australian arid grassland. **Soil Research**, v. 55, n. 2, p. 172-181. 2017. Disponível em: <http://www.publish.csiro.au/sr/sr16002>. DOI: 10.1071/SR16002.

MAXIM, L.; VAN DER SLUIJS, J. P. Uncertainty: cause or effect of stakeholders' debates? Analysis of a case study: the risk for honeybees of the insecticide Gaucho®. **Science of the Total Environmental Journal**, v. 376, n. 1-3, p. 1-17. 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969707000095>. DOI: 10.1016/jscitotenv.2006.12.052.

MAXIM, L.; VAN DER SLUIJS, J. P. Expert explanations of honeybee losses in areas of extensive agriculture in France: Gaucho® compared with supposed causal factors. **Environmental Research Letters**, v. 5, n. 1, p. 1-12. 2010. Disponível em: <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/5/1/014006/pdf>. DOI: 10.108 8/1748-9326/5/1/014006.

MAXIM, L.; VAN DER SLUIJS, J. P. Seed-dressing systemic insecticides and honeybees. In: EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. **Late lessons from early warnings: science, precaution, and innovation**. Ed. European Environment Agency (EEA), report 1/2013, Copenhagen. 2013. Chapter 16, p. 401-438. Disponível em: <http://www.eea.europa.eu/publications/late-lessons-2/late-lessons-chapters/late-lessons-ii-chapter16>.

MCCULLAGH, P.; NELDER J. A. Generalized Linear Models. 2nd ed. In: CHAPMAN; HALL. **Monographs on Statistics and Applied Probability 37**. US: Springer, 1989. 511p. ISBN:978-0-412-31760-6. DOI 10.1007/978-1-4899-3242-6.

MEDRZYCKI, P.; MONTANARI, R.; BORTOLOTTI, L.; SABATINI, A. G.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honeybee behaviour. Laboratory tests. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 59-62. 2003. Disponível em: <http://cues.cfans.umn.edu/old/pollinators/pdf-HBfor/2003Medrzycki.pdf>.

MEDRZYCKI, P.; SGOLASTRA, F.; BOGO, G.; TOSI, S.; VENTURI, S. Influence of some experimental conditions on the results of laboratory toxicological tests on honeybees. In: **XI International Symposium** "Hazards of pesticides to bees". Wageningen, The Netherlands, November 2-4, 2011. Disponível em: <http://pub.jki.bund.de/index.php/JKA/article/view/1955/2331>. DOI: 10.5073/jka.2012.437.029.

MERCK MILLIPORE – Fórmula Estrutural do pirazol. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Pirazol,MDA_CHEM-807572?ReferrerURL=https://www.google.com.br/>.

MERCK MILLIPORE – Fórmula Estrutural do fenilpirazol. Disponível em: <http://structuresearch.merck-chemicals.com/cgi-bin/getStructureImage.pl?owner=MDA&unit=CHEM&product=843855>.

MESSAGE, D. Registro fotográfico de Síndrome do Colapso da Colônia (*CCD*) em Altinópolis, São Paulo. 2008.

MESSAGE, D. Principais problemas sanitários em apiários do Brasil. *CCD* (*Colony Collapse Disorder*) ou desaparecimento das abelhas. In: Congresso Iberolatinoamericano de Apicultura, 10. Natal, 2010. **Anais**… CD-ROM.

MESSAGE, D.; TEIXEIRA, E. W.; DE JONG, D. Situação da sanidade das abelhas no Brasil. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Polinizadores do Brasil - Contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: Edusp, 2012. 488 p. Disponível em: <http://www.edusp.com.br/detlivro.asp?ID=413445>.

MESSAGE, D.; TEIXEIRA, E. W.; SILVA, I. C.; DE JONG, D.; FREITAS, N. H. A. Colony collapse incidents in Africanized honey bees in Brazil. In: INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS, 44. 2015. Daejeon, Korea. Scientific Program Abstracts. **Annals of**… Daejeon: Apimondia, p. 218. 2015.

MICHENEAU, C.; FOURNEL, J.; GAUVIN-BIALECKI, A.; PAILLER, T. Auto-pollination in a long-spurred endemic orchid (*Jumellea stenophylla*) on Reunion Island (Mascarene Archipelago, Indian Ocean). **Plant Systematics and Evolution**, v. 272, p. 11-22. 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00606-007-0626-y>. DOI: 10.1007/s00606-007-0626-y.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. Baltimore: John Hopkins University Press, 2000. 992 p. Disponível em: <http://base.dnsgb.com.ua/files/book/Agriculture/Beekeeping/Thep-Bees-of-the-World.pdf>.

MILIUS, S. Not so elementary bee mystery. **Science News**, v. 172, n. 4, p. 56-58. 2007. Disponível em: <http://go.galegroup.com/ps/i.do?id=GALE|A167346211&v=2.1&=capes&it=r&p=AONE&sw=w&asid=0f73de4df715701575cd1dc5867ef21d>. DOI: 10.1002/scin.2007.5591720410.

MILLAR, M. M.; DILLMAN, D. A. Improving response to web and mixed-mode surveys. **Public Opinion Quarterly**, v. 75, n. 2, p. 249-269. 2011. Disponível em: <http://poq.oxfordjournals.org/content/early/2011/05/17/poq.nfr003.full.pdf>. DOI: 10.1093/poq/nfr003.

MILLOT, F.; DECORS, A.; MASTAIN, O.; QUINTAINE, T.; BERNY, P.; VEY, D.; LASSEUR, R.; BRO, E. Field evidence of bird poisonings by imidacloprid-treated seeds: a review of incidents reported by the French SAGIR network from 1995 to 2014. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 6, p. 5469-5485. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11356-016-8272-y.pdf>. DOI: 10.1007/s11356-016-8272-y.

MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Ofício nº 51/2015/DQAM/SMCQ/MMA. Resposta à Petição pela Proteção às Abelhas, Dossiê da Campanha "SEM ABELHA SEM ALIMENTO", da Organização BEE OR NOT TO BEE, que relata os resultados aferidos pelo aplicativo BEEALERT. 2015.

MOMMAERTS, V.; REYNDERS, S.; BOULET, J.; BESARD, L.; STERK, G.; SMAGGHE, G. Risk assessment for side-effects of neonicotinoids against bumblebees with and without impairing foraging behavior. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 1, p. 207-215. 2010. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.476.106&rep=rep1&type=pdf>. DOI: 10.1007/s10646-009-0406-2.

MORANDIN, L. A.; WINSTON, M. L. Effects of novel pesticides on bumblebee (Hymenoptera: Apidae) colony health and foraging ability. **Environmental Entomology**, v. 32, n. 3, p. 555-563. 2003. Disponível em: <http://cues.cfans.umn.edu/old/pollinators/pdf-BBfor/2003MorandinWinston.pdf>. DOI: 10.1603/0046-225X-32.3.555.

MORRISSEY, C. A.; MINEAU, P.; DEVRIERS, J. H.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; LIESS, M.; CAVALLARO, M. C.; LIBER, K. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. **Environment International**, vol. 74, n. 1, p. 291-303. 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412014003183>. DOI: 10.1016/j.envint.2014.10.024.

MORTON, J. The bees' knees. **Green Lifestyle**, 23 October 2014. Disponível em: <http://www.greenlifestylemag.com.au/features/20238/bees-knees>.

MOSTERT, M. A.; SCHOEMAN, A. S.; VAN DER MERWE, M. The relative toxicities of insecticides to earthworms of the *Pheretima* group (Oligochaeta). **Pest Management Science**, v. 58, n. 5, p. 446-450. 2002. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.473/pdf>. DOI: 10.1002/ps.473.

MULÈ, R. D.; SABELLA, G. D.; ROBBA, L.; MANACHINI, B. Systematic review of the effects of chemical insecticides on four common butterfly families. **Frontiers in Environmental Science**, v. 5, n. 32, p. 1-5. 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2017.00032/full>. DOI: 10.3389/fenvs.2017.00032.

MÜLLER, P. H. Nobel Lecture – DDT and newer insecticides. 1948. Disponível em: <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1948/muller-lecture.pdf>.

MULLIN, C. A.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J. L.; ASHCRAFT, S.; SIMONDS, R.; VANENGELSDORP, D.; PETTIS, J.S. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **PLoS One**, v. 5, n. 3, e9754, p. 1-19. 2010. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0009754&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0009754.

NARAHASHI, T.; ZHAO, X.; NAGATA, K.; YEH, J. Z. Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. **Human and Experimental Toxicology Journal**, v. 26, n. 4, p. 361-366. 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2677724/pdf/nihms-108229.pdf>. DOI: 10.1177/0960327106078408.

NARAHASHI, T.; ZHAO, X.; IKEDA, T.; SALGADO, V. L.; YEH, J. Z. Glutamate-activated chloride channels: unique fipronil targets present in insects but not in mammals. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, n. 2, p. 149-152. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2885805/pdf/nihms-135990.pdf>. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.07.008.

NAS – NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. **Status of pollinators in North America**. National Academy Press, Washington, DC, 2007. p. 40-41, 46-47, 76, 120. 326 p. Disponível em: <http://www.nap.edu/catalog/11761.html>.

NASS – NATIONAL AGRICULTURAL STATISTICS SERVICES. **Honey**. 2008. Disponível em: <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1191>.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; TIETJEN, K. Ligands of the nicotinic-acetylcholine receptor as insecticides. **Pest Management Science**, v. 55, n. 5, p. 608-610. 1999. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/229536955_Ligands_of_the_nicotinic_acetylcholine_receptor_as_insecticides_Pestic_Sci_55608-610>. DOI: 10.1002/(sici)1096-9063(199905)55:5<608::aid-ps967>3.0.co;2-y.

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. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/227731316_Toxicity_and_nicotinic_acetylcholine_receptor_interaction_of_imidacloprid_and_its_metabolites_in_Apis_mellifera_Hymenoptera_Apidae_Pest_Manag_Sci>. DOI: 10.1002/ ps.331.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SALGADO, V. L.; KAUSSMANN, M. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 76, n. 2, p. 55-69. 2003. Disponível em: <https://www.academia.edu/18879087/Thiamethoxam_is_a_neonicotinoid_precursor_converted_to_clothianidin_in_insects_and_plants>. DOI: 10.1016/s0048-3575(03)00065-8.

NEUMANN, P.; CARRECK, N. L. Honey bee colony losses. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 1, p. 1-6. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228361576_Honey_bee_colony_loss>. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.01.

NGUYEN, B. K.; SAEGERMAN, C.; PIRARD, C.; MIGNON, J.; WIDART, J.; THIRIONET, B.; VERHEGGEN, F. J.; BERKVENS, D.; DE PAUW, E.; HAUBRUCE, E. Does imidacloprid seed-treated maize have an impact on honey bee mortality? **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 2, p. 616-623. 2009. Disponível em: <https://www.academia.edu/13865090/Does_Imidacloprid_SeedTreated_Maize_Have_an_Impact_on_Honey_Bee_Mortality>. DOI: 10.3896/IBRA.1.49.1.01.

NIELSEN, S. A., BRØDSGAARD, C. J.; HANSEN, H. Effects on detoxification enzymes in different life stages of honey bees (*Apis mellifera* L., Hymenoptera: Apidae) treated with a synthetic pyrethroid (Flumethrin). **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 28, n. 3, p. 437-443. 2000. Disponível em: <http://www.atla.org.uk/effects-on-detoxification-enzymes-in-different-life-stages-of-honey-bees-apis-mellifera-l-hymenoptera-apidae-treated-with-a-synthetic-pyrethroid-flumethrin/>.

NPIC – NATIONAL PESTICIDE INFORMATION CENTER. DDT Technical Fact Sheet. 1999. Updated March 6, 2014. Disponível em: <http://npic.orst.edu/factsheets/ddtgen.pdf>.

NUYTTENS, D.; DEVARREWAERE, W.; VERBOVEN, P.; FOQUÉ, P. Pesticide-laden dust emission and drift from treated seeds during seed drilling: a review. **Pest Management Science**, v. 69, n. 5, p. 564-575. 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.34 85/pdf>. DOI: 10.1002/ps.3485.

OLDROYD, B. P. What's killing American honeybees? **PLoS Biology**, v. 5, n. 6, e168, p. 1195-1199. 2007. Disponível em: <http://www.plosbiology.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pbio.0050168&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050168.g001.

OLIVEIRA, R. A.; ROAT, T. C.; CARVALHO, S. M.; MALASPINA, O. Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the Africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v. 29, n. 10, p. 122-1133. 2013. Disponível em: <http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/Oliveira_ea_2013_thiamethoxam_bee_brain.pdf>. DOI: 10.1002/tox.21842.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321-326. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>.

OSBORNE, J. L.; MARTIN, A. P.; SHORTALL, C. R.; TODD, A. D.; GOULSON, D.; KNIGHT, M. E.; HALE, R. J.; SANDERSON, R. A. Quantifying and comparing bumblebee nest densities in gardens and countryside habitats. **Journal of Applied Ecology**, v. 45, n. 3, p. 784-792. 2008. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2664.2007.01359.x/epdf>. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2007.01359.x.

PAOLI, B.; HAGGARD, L.; SHAH, G. **Confidence intervals in public health**. Office of Public Health Assessment. Utah: Dept. of Health, USA. p 1-12. 2002. Disponível em: < http://health.utah.gov/opha/IBIShelp/ConfInts.pdf>.

PAPACH, A.; FORTINI, D.; GRATEAU, S.; AUPINEL, P.; RICHARD, F-J. Larval exposure to thiamethoxam and American foulbrood: effects on mortality and cognition in the honey bee *Apis mellifera*. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 4, p. 475-486. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1332541>. DOI: 10.1080/00218839.2017.1332541.

PARADIS, D.; BÉRAIL, G.; BONMATIN, J-M.; BELZUNCES, L. P. Sensitive analytical methods for 22 relevant insecticides of 3 chemical families in honey by GC-MS/MS and LC-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 2, p. 621-633. 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/258766650_Sensitive_analytical_methods_for_22_relevant_insecticides_of_3_chemical_families_in_honey_by_GC-MSMS_and_LC-MSMS>. DOI: 10.1007/s00216-013-7483-z.

PECENKA, J. R.; LUNDGREN, J. G. Non-target effects of clothianidin on monarch butterflies. **The Science of Nature**, v. 102, n. 3-4, p. 1290. 2015. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/274396530_Nontarget_effects_of_clothianidin_on_monarch_butterflies>. DOI: 10.1007/s00114-015-1270-y.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. 20ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. 384 p. Disponível em: <http://static.scielo.org/scielobooks/sg3mt/pdf/peres-9788575413173.pdf>.

PERRY, C. J.; SØVIK E.; MYERSCOUGH, M. R.; BARRON, A. B. Rapid behavioral maturation accelerates failure of stressed honeybee colonies. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v. 112, n. 11, p. 3427-3432. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1422089112>.

PETTIS, J. S.; VANENGELSDORP, D.; JOHNSON, J.; DIVELY, G. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. **Naturwissenschaften**, v. 99, n. 2, p. 153-158. 2012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3264871/pdf/114_2011_Article_881.pdf>. DOI: 10.1007/s00114-011-0881-1.

PETTIS, J. S.; LICHTENBERG, E. M.; ANDREE, M.; STITZINGER, J.; ROSE, R.; VANENGELSDORP, D. Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, e70182, p. 1-9. 2013. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0070182>. DOI:10.1371/journal.pone.0070182.

PHILLIPS, N. Australian scientists may have solved the mystery of bee colony collapse. **The Sunday Morning Herald**. Feb. 10, 2015. Disponível em: <http//:www.smh.com.au/technology/sci-tech/australian-scientists-may-have-solved-the-mystery-of-bee-colony-collapse-20150210-13a6ss.html>.

PILLING, E. D.; CAMPBELL, P.; COULSON, M.; RUDDLE, N.; TORNIER, I. A four-year field program investigating long-term effects of repeated exposure of honeybee colonies to flowering crops treated with thiamethoxam. **PLoS One**, vol. 8, n. 10, e77193, p. 1-14. 2013. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0077193>. DOI: 10.1371/journal.pone.0077193.

PINNER, A. Ueber Nicotin. Die Constitution des Alkaloïds. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 26, n. 1, p. 292-305. 1893. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cber.18930260165/abstract>. DOI: 10.1002/cber.18930260165.

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de *CCD*? **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422-442. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v51n5/1678-3921-pab-51-05-00422.pdf>. DOI: 10.1590/S0100-204X2016000500003.

PISA, L. W.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J-M.; DOWNS, C. A.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; MCFIELD, M.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; SETTELE, J.; SIMON-DELSO, N.; STARK, J. D.; VAN DER SLUIJS, J. P.; VAN DYCK, H.; WIEMERS, M. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 68-102. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-014-3471-x>. DOI: 10.1007/s11356-014-3471-x.

PISA, L. W.; GOULSON, D.; YANG, E-C.; GIBBONS, D.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; MITCHELL, E.; AEBI, A.; VAN DER SLUIJS, J.; MACQUARRIE, C. J. K.; GIORIO, C.; LONG, E. Y.; MCFIELD, M.; VAN LEXMOND, M. B.; BONMATIN, J-M. An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, *online*, p. 1-49. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11356-017-0341-3.pdf>. DOI: 10.1007/s11356-017-0341-3.

POCHI, D.; BIOCCA, M.; FANIGLIULO, R.; PULCINI, P.; CONTE, E. Potential exposure of bees, *Apis mellifera* L., to particulate matter and pesticides derived from seed dressing during maize sowing. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, n. 2, p. 354-361. 2012. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00128-012-0664-1>. DOI: 10.1007/s00128-0664-1.

POSSELT, W.; REIMANN, L. Chemische Untersuchung des Tabaks und Darstellung des eigentümlichen wirksamen Prinzips dieser Pflanze. **Geiger's Mag Parmac**, vol. 24, p.138-161. 1828.

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, n. 6, p. 345-352, 2010a. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169534710000364>. DOI: 10.1016/j.tree.2010.01.007.

POTTS, S. G.; ROBERTS, S. P. M.; DEAN, R.; MARRIS, G.; BROWN, M. A.; JONES, R.; NEUMANN, P.; SETTELE, J. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. **Journal of Apicultural Research**, v. 49, n. 1, p. 15-22, 2010b. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3896/IBRA.1.49.1.02>. DOI: 10.3896/ibra.1.49.1.02.

PPDB – PESTICIDES PROPERTIES DATABASE. Online version 7.0. Hatfield, Herts, UK: University of Hertfordshire, 2016. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>.

PRICE, P. W.; DENNO, R. F.; EUBANKS, M. D.; FINKE, D. L.; KAPLAN, I. **Insect ecology: behavior, populations and communities**. New York: Cambridge University Press, 2011. 874p. ISBN: 978-0-521-83488-9.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R version 3.3.1: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016.

RAMIREZ-ROMERO, R.; CHAUFAUX, J.; PHAM-DELÈGUE, M-H. Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. **Apidologie**, v. 36, n. 4, p. 601-611. 2005. Disponível em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00892162/document>. DOI: 10.1051/apido:2005039.

RATNIEKS, F. L. W.; CARRECK, N. L. Clarity in honey bee collapse? **Science**, v. 327, n. 5962, p. 152-153. 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/40894850_Clarity_on_Honey_Bee_Collapse>. DOI: 10.1126/science.1185563.

REINHARD, J., SRINIVASAN, M. V.; ZHANG, S. W. Scent-triggered navigation in honey bees. **Nature**, v. 427, n. 6973, p. 411. 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/427411a>. DOI: 10.1038/427411a.

RICKETTS, T. H.; REGETZ, J.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; BOGDANSKI, A.; GEMMILL-HERREN, B.; GREENLEAF, S. S.; KLEIN, A-M.; MAYFIELD, M. M.; MORANDIN, L. A.; OCHIENG, A.; VIANA, B. F. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? **Ecology Letters**, v.11, p. 499-515, 2008. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x/epdf>. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. **Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública**. Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 30, n. 7, p. 1-3. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102311X2014000701360&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. DOI: 10.1590/0102-311XPE020714.

ROBERTS, J. M. K.; ANDERSON, D. L.; DURR, P. A. Absence of deformed wing virus and *Varroa destructor* in Australia provides unique perspectives on honeybee viral landscapes and colony losses. **Scientific Reports**, v. 7, n. 6925, p. 1-11. 2017. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-07290-w.pdf>. DOI: 10.1038/s41598-017-07290-w.

ROCHA, M. C. L. S. A. **Efeitos dos agrotóxicos sobre abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento**. Brasília: Ibama, p. 16, 88 p. 2012. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/category/4?download=5554%3Aefeitos-dos-agrotoxicos-sobre-abrelhas-silvestres-no-brasill-proposta-metodolgica-de-acompanhamento>.

ROCHA, M. P.; DOURADO, P. L. R.; SOUZA RODRIGUES, M.; RAPOSO, J. L.; GRISOLIA, A. B.; OLIVEIRA, K. M. P. The influence of industrial and agricultural waste on water quality in the Água Boa stream (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 7, p. 1-12. 2015. Disponível em: <https://link-springer-com.ez13.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1007%2Fs10661-015-4475-9.pdf>. DOI: 10/1007/s10661-015-4475-9.

ROLLIN, O.; BENELLI, G.; BENVENUTI, S.; DECOURTYE, A.; WRATTEN, S. D.; CANALE, A.; DESNEUX, N. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 1, a. 8, p. 1-22. 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s13593-015-0342-x>. DOI: 10.1007/s13593-015-0342-x.

RONDEAU, G.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; TENNEKES, H. A.; DECOURTYE, A.; RAMÍREZ-ROMERO, R.; DESNEUX, N. Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites. **Scientific Reports**, v. 4, n. 5566, p. 1-8, 2014. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/srep05566>. DOI: 10.1038/srep05566.

ROSA, A. S.; PRICE, R. I'A.; CALIMAM, M. J. F.; QUEIROZ, E. P.; BLOCHTEIN, B.; PIRES, C. S. S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The stingless bee species, *Scaptotrigona aff. depilis*, as a potential indicator of environmental pesticide contamination. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 8, p. 1851-1853. 2015. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.2998/pdf>. DOI: 10.1002/etc.2998.

ROSENBERG, T. What the world needs now is DDT. **The New York Times**. New York. April 11, 2004. Disponível em: <http://www.nytimes.com/2004/04/11/magazine/what-the-world-needs-now-is-ddt.html?pagewanted=all>.

SAMSON-ROBERT, O.; LABRIE, G.; CHAGNON, M.; FOURNIER, V. Planting of neonicotinoid-coated corn raises honey bee mortality and sets back colony development. **Peer J**, v. 5, e3670, p. 1-24. 2017. Disponível em: <https://peerj.com/articles/3670/>. DOI: 10.7717/peerj.3670.

SANCHES, A. L.; FELIPPE, M. R.; CARMO, A. U.; RUGNO, G. R.; YAMAMOTO, P. T. Eficiência de inseticidas sistêmicos, aplicados em mudas cítricas, em pré-plantio, no controle de *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae). **Bioassay**. **Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 4, n. 6, p. 1-7, 2009. Disponível em: <http://bioassay.org.br/bioassay/article/view/29/99>. DOI: 10.14295/BA.v4.0.29.

SÁNCHEZ-BAYO, F. From simple toxicological models to prediction of toxic effects in time. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 3, p. 343-354. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/23670499_From_simple_toxicological_models_to_prediction_of_toxic_effects_n_time>. DOI: 10.1007/s10646-008-0290-1.

SÁNCHEZ-BAYO, F. The trouble with neonicotinoids: Chronic exposure to widely used insecticides kills bees and many other invertebrates. **Environmental Science**, v. 346, n. 6211, p. 806-807. 2014. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/346/6211/806>. DOI: 10.1126/science.1259159.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Evaluation of suitable endpoints for assessing the impacts of toxicants at the community level. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 667-680. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/51837285_Evaluation_of_suitable_endpoints_for_assessing_the_impacts_of_toxicants_at_the_community_level_Ecotoxicology?ev=prf_pub>. DOI: 10.1007/s10646-011-0823-x.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Pesticide residues and bees: a risk assessment. **PLoS One**, v. 9, n. 4, p. 1-16. 2014. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0094482>. DOI: 10.1371/journal.pone.0094482.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; GOULSON, D.; PENNACCHIO, F.; NAZZI, F.; GOKA, K.; DESNEUX, N. Are bee diseases linked to pesticides? A brief review. **Environment International**, v. 89-90, n. 4, p. 7-11. 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/292138564_Are_bee_diseases_linked_to_pesticides_-_A_brief_review>. DOI: 10.1016/j.envint.2016.01.009.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; BELZUNCEZ, L.; BONMATIN, J-M. Lethal and sublethal effects and incomplete clearance of ingested imidacloprid in honey bees (*Apis mellifera*). **Ecotoxicology**, v. 26, n. 6, p. 1-8. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10646-017-1845-9>. DOI: 10.1007/s10646-017-1845-9.

SÁNCHEZ-BAYO, F.; TENNEKES, H. A. Assessment of ecological risks of agrochemicals requires a new framework. **Journal of Environmental Risk Assessment and Remediation**, v. 1, n. 3, p. 20-28. 2017. Disponível em: <http://www.alliedacademies.org/articles/assessment-of-ecological-risks-of-agrochemicals-requires-a-new-framework.pdf>.

SANTOS, L. G.; MESSAGE, D.; ALVES, M. L.; PINTO, M. F. A.; SILVA, I. C.; TEIXEIRA, E. W. Perfil da sanidade apícola em duas regiões do estado de São Paulo, Brasil: apicultura fixa e migratória. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 60. 2011. Disponível em: <http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/91>. ISSN 2179-6645.

SATCHIVI, N. M.; SCHMITZER, P. R. Synergistic herbicide/insecticide composition contai ning certain pyridine carboxylic acids and certain insecticides. 2011. Patent: US-2011/0207606. Disponível em: <http://www.google.com.ar/patents/WO2011103225A1?cl=en2013-829>.

SCHAAFSMA, A.; LIMAY-RIOS, V.; XUE, Y.; SMITH, J.; BAUTE, T. Field-scale examination of neonicotinoid insecticide persistence in soil as a result of seed treatment use in commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 295-302. 2016. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.3231/pdf>. DOI: 10.1002/etc.3231.

SCHACKER, M. **A spring without bees: how Colony Collapse Disorder has endangered our food supply**. Guilford, Connecticut: The Lyons Press, 2008, p. 18. 292p.

SCHICK, R. S.; GREENWOOD, J. J. D.; BUCKLAND, S. T. An experiment on the impact of a neonicotinoid pesticide on honeybees: the value of a formal analysis of the data. **Environmental Sciences Europe**, v. 29, n. 4, p. 1-10. 2017. Disponível em: < https://link.springer.com/article/10.1186/s12302-016-0103-8>. DOI: 10.1186/s2302-016-0103-8.

SCHMUCK, R. Effects of a chronic dietary exposure of the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to imidacloprid. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, n. 4, p. 471-478. 2004. Disponível em: <http://bee-quick.com/reprints/imd/Schmuck_2004.pdf>. DOI: 10.1007/s00244-004-3057-6.

SCHMUCK, R.; SCHÖNING, R.; STORK, A.; SCHRAMEL, O. Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L., Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. **Pest Management Science**, v. 57, n. 3, p. 225-238. 2001. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/11885529_Risk_posed_to_honeybees_Apis_mellifera_L_Hymenoptera_by_an_imidacloprid_seed_dressing_of_sunflowers_Pest_Manag_Sci>. DOI: 10.1002/ps.270.

SCHMUCK, R.; STADLER, T.; SCHMIDT, H. W. Field relevance of a synergistic effect observed in the laboratory between an EBI fungicide and a chloronicotinyl insecticide in the honeybee (*Apis mellifera* L., Hymenoptera). **Pest Management Science**, v. 59, n. 3, p. 279-286. 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.626>. DOI: 10.1002/ps.626.

SCHNEIDER, C. W.; TAUTZ, J.; GRÜNEWALD, B.; FUCHS, S. RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera*. **PLoS One**, v. 7, n. 1, e30023, p. 1-9. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0030023&representation=PDF>.

SCHÖLER, J.; KRISCHIK, V. Chronic exposure of imidacloprid and clothianidin reduce queen survival, foraging, and nectar storing in colonies of *Bombus impatiens*. **PLoS One**, v. 9, n. 3, e91573, p. 1-14. 2014. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0091573&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0091573.

SCIENCEPOLE. Fórmula estrutural do ABT-594 (Tebaniclina). Disponível em: <http://sciencepole.com/tebanicline/>.

SCOTT-DUPREE, C. D., CONROY, L.; HARRIS, C. R. Impact of currently used or potentially useful insecticides for canola agroecosystems on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae), *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 1, p. 177-182. 2009. Disponível em: <http://www.bijensterfte.nl/sites/default/files/SCOTT-DUPREE_ea_2009.pdf>. DOI: 10.1603/029.102.0125.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Desafios da Apicultura Brasileira. **Revista Sebrae Agronegócios**, n. 3, 2006. Disponível em: <https://issuu.com/plano midia/docs/rev_agronegocio3>.

SGOLASTRA, F.; RENZI, T.; DRAGHETTI, S.; MEDRZYCKI, P.; LODESANI, M.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of neonicotinoid dust from maize seed dressing on honey bees. **Bulletin of Insectology**, v. 65, n. 2, p. 273-280, 2012. Disponível em: <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol65-2012-273-280sgolastra.pdf>. DOI: 10.5073/jka.2012.437.012.

SGOLASTRA, F.; MEDRZYCKI, P.; BORTOLOTTI, L.; RENZI, M. T.; TOSI, S.; BOGO, G.; TEPER, D.; PORRINI, C.; MOLOWNY-HORAS, R.; BOSCH, J. Synergistic mortality between a neonicotinoid insecticide and an ergosterol-biosynthesis-inhibiting fungicide in three bee species. **Pesticide Management Science**, v. 73, n. 6, p. 1236-1243. 2017. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.4449/epdf>. DOI: 10.1002/ps.4449.

SILVA, J. G. da. Statements from key partners. In: IPBES - **The assessment repot on pollinator, pollination and food production**. 2016.

SILVA, I. P.; OLIVEIRA, F. A. S.; PEDROZA, H. P.; GADELHA, I. C. N.; MELO, M. M.; SOTO-BLANCO, B. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 703-715. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13592-015-0360-3>. DOI: 10.1007/s13592-015-0360-3.

SIMON-DELSO, N.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J-M.; CHAGNON, M.; DOWNS, C.; FURLAN, L.; GIBBONS, D. W.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C. H.; LIESS, M.; LONG, E.; MCFIELD, M.; MINEAU, P.; MITCHELL, E. A.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; PISA, L.; SETTELE, J.; STARK, J. D.; TAPPARO, A.; VAN DYCK, H.; VAN PRAAGH, J.; VAN DER SLUIJS, J. P.; WHITEHORN, P. R.; WIEMERS, M. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 5-34. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-014-3470-y>. DOI: 10.1007/s11356-014-3470-y.

SINHA, P. K.; SHARMA, A. Organophosphate poisoning a review. **Medical Journal of Indonesia**, v. 12, n. 2, p. 120-126. 2003. Disponível em: <http://mji.ui.ac.id/journal/index.php/mji/article/view/100/99>. DOI: 10.13181/mji.v12i2.100.

SMITH, D. Worldwide trends in DDT levels in human breast milk. **International Journal of Epidemiology**, v. 28, n. 2, p. 179-188. 1999. Disponível em: <http://ije.oxfordjournals.org/content/28/2/179.full.pdf>. DOI: 10.1093/ije/28.2.179.

SMITH, K. M.; LOH, E. H.; ROSTAL, M. K.; ZAMBRANA-TORRELIO, C. M.; MENDIOLA, L.; DASZAK, P. Pathogens, pests, and economics: drivers of honey bee colony declines and losses. **EcoHealth**, v. 10, n. 4, p. 434-445. 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10393-013-0870-2>. DOI: 10.1007/s10393-013-0870-2.

SMODIŠ ŠKERL, M. I.; BOLTA, Š. V.; CESNIK, H. B.; GREGORC, A. Residues of pesticides in honeybee (*Apis mellifera carnica*) beebread and in pollen loads from treated apple orchards. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 83, n. 3, p. 374-377. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/225799129_Residues_of_Pesticides_in_Honeybee_Apis_mellifera_carnica_Bee_Bread_and_in_Pollen_Loads_from_Treated_Apple_Orchards>. DOI: 10.1007/s00128-009-9762-0.

SOARES, H. M.; JACOB, C. R.; CARVALHO, S. M.; NOCELLI, R. C.; MALASPINA, O. Toxicity of imidacloprid to the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Himenoptera: Apidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 94, n. 6, p. 675-680. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00128-015-1488-6>. DOI: 10.1007/s00128-015-1488-6.

SOFTPEDIA. Fotografia de plantação de tabaco. 2015. Disponível em: <http://i1-news.softpedia-static.com/images/news2/Tobacco-and-Nicotine-Good-as-Pesticides-2.jpg>.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, M. M. **Monitoramento de risco ambiental de agrotóxicos: Princípios e recomendações**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29p. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_42.pdf>.

SPANDE, T. F.; GARRAFFO, H. M.; EDWARDS, M. W.; YEH, H. J. C.; PANNELL, L.; DALY, J. W. Epibatidine: a novel (chloropyridyl) azabicycloheptane with potent analgesic activity from an Ecuadorian poison frog. **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, n. 9, p. 3475-3478. 1992. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja00035a048>. DOI: 10.1021/ja00035a048.

SPURGEON, D.; HESKETH, H.; LAHIVE, E.; SVENDSEN, C.; BAAS, J.; ROBINSON, A.; HORTON, A.; HEARD, M. Chronic oral lethal and sub-lethal toxicities of different binary mixtures of pesticides and contaminants in bees (*Apis mellifera*, *Osmia bicornis* and *Bombus terrestris*). **Centre for Ecology and Hydrology**. EFSA supporting publication 2016, EN-1076. 66p. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1076/asset/efs31076e.pdf;jsessionid=9D4012A1CA30623573CF89E5489EEBFC.f01t02?v=1&t=jc2k03dy&s=78bba77e1d8c8d4ea6a8e4d6b9090b1352efeaf8>.

STANLEY, D. A.; RUSSELL, A. L.; MORRISON, S. J.; ROGERS, C.; RAINE, N. E. Investigating the impacts of field-realistic exposure to a neonicotinoid pesticide on bumblebee foraging, homing ability and colony growth. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, n. 5, p. 1440-1449. 2016. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2664.12689/full>. DOI: 10.1111/1365-2664.12689.

STARK, J. D., JEPSON, P.C.; MAYER, D. F. Limitations to use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, n. 5, p. 1081-1088. 1995. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/233502798_Limitations_to_Use_of_Topical_Toxicity_Data_for_Predictions_of_Pesticide_Side_Effects_in_the_Field>. DOI: 10.1093/jee/88.5.1081.

STEINBERGER, P. **Das spurlose Sterben**. In: Sueddeutsche.de. 2007. Disponível em: <http://www.sueddeutsche.de/wissen/raetselhafter-exitus-der-bienen-das-spurlose-sterben-1.911906>.

STEINHAUER, N. A.; RENNICH, K.; WILSON, M. E.; CARON, D. M.; LENGERICH, E. J.; PETTIS, J. S.; ROSE, R.; SKINNER, J. A.; TARPY, D. R.; WILKES, J. T.; VANENGELSDORP, D. A nation survey of managed honeybee 2012-2013 annual colony losses in the USA: Results from the Bee Informed Partnership. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 1, p. 1-18. 2014. Disponível em: <http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/49861/CaronDeweyHorticultureNationalSurveyManaged.pdf?sequence=1>. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.1.01.

STEVENS, S.; JENKINS, P. Heavy costs: weighing the value of neonicotinoid insecticides in agriculture. In: **Center for food safety**. 20 p. 2014. Disponível em: <http://www.centerforfoodsafety.org/files/neonic-efficacy_digital_29226.pdf>.

STOKSTAD, E. Entomology: the case of the empty hives. **Science**, v. 316, n. 5827, p. 970-972. 2007. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/316/5827/970.short?cited-by=yes&legid=sci;316/5827/970>. DOI: 10.1126/science.316.5827.970.

STOKSTAD, E. European Union expands ban of three neonicotinoid pesticides. **Science**, v. 361, n. 6397. 2018. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/news/2018/04/european-union-expands -ban-three-neonicotinoid-pesticides>. DOI: 10.1126/science.aau015 2.

SUCHAIL, S.; GUEZ, D.; BELZUNCES, L. P. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 7, p. 1901-1905. 2000. Disponível em: <https://www.academia.edu/16066095/CHARACTERISTICS_OF_IMIDACLOPRID_TOXICITY_IN_TWO_APIS_MELLIFERA_SUBSPECIES>. DOI: 10. 1002/etc.5620190726.

SUCHAIL, S.; GUEZ, D.; BELZUNCES, L. P. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 11, p. 2482-2486. 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11699773>. DOI: 10.1002/etc.56202 01113.

SUCHAIL, S.; DE SOUZA, G.; RAHMANI, R.; BELZUNCES, L. P. *In vivo* distribution and metabolisation of ^{14}C-imidacloprid in different compartments of *Apis mellifera* L. **Pest Management Science**, v. 60, n. 11, p. 1056-1062. 2004a. Disponível em: <http://www.pcelinjak.hr/OLD/images/stories/test2/aaa/suchail_04_imidacloprid_compartiments.pdf>. DOI: 10. 1002/ps.895.

SUCHAIL, S.; DEBRAUWER, L.; BELZUNCES, L. P. Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. **Pest Management Science**, v. 60, n. 3, p. 291-296. 2004b. Disponível em: <http://www.pcelinjak.hr/OLD/images/stories/test2/aaa/suchail_03_lc_ms-ms_2.pdf>. DOI: 10.1002/ps.772.

TAPPARO, A.; MARTON, D.; GIORIO, C.; ZANELLA, A.; SOLDÀ, L.; MARZARO, M.; VIVIAN, L.; GIROLAMI, V. Assessment of the environmental exposure of honeybees to the particulate matter containing neonicotinoid insecticides coming from corn coated seeds. **Environmental Science Technology**, v. 46, n. 5, p. 2592-2599. 2012. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es2035152>. DOI: 10.1021/es es2035152.

TASEI, J-N.; LERIN, J.; RIPAULT, G. Sub-lethal effects of imidacloprid on bumblebees, *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae), during a laboratory-feeding test. **Pest Management Science**, v. 56, n. 9, p. 784-788. 2000. Disponível em: <http://cues.cfans.umn.edu/old/pollinators/pdf-BBcolony/2000Tasei.pdf>. DOI: 10.1002/1526-4998(200009)56: 9<784::AID-PS208>3.0.CO;2-T.

TASEI, J. N.; RIPAULT, G.; RIVAULT, E. Hazards of imidacloprid seed coating to *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) when applied to sunflower. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 3, p. 623-627. 2001. Disponível em: <http://jee.oxfordjournals.org/content/94/3/623>. DOI: 10.1603/0022-0493-94.3.623.

TAVARES, D. A.; ROAT, T. C.; CARVALHO, S. M.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; MALASPINA, O. In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee Apis *mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 135, n. 5, p. 370-378. 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653515004488?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.090.

TEETERS, B. S.; JOHNSON, R. M.; ELLIS, M. D.; SIEGFRIED, B. D. Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honeybees (*Apis mellifera* L.). **Environmental and Toxicological Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1349-1354. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/223970391_Using_videotracking_to_assess_sublethal_effects_of_pesticides_on_honey_bees_Apis_mellifera_L>. DOI: 10.1002/etc.1830.

TEIXEIRA, E. W.; MESSAGE, D.; ALVES, M. L.; SANTOS, L. G.; SIMÕES, Z. L. P.; GUIDUGLI-LAZZARINI, K. R.; BITONDI, M. M. G.; LOURENÇO, A. P.; SILVA, I. C.; CHEN, Y.; EVANS, J. D.; PETTIS, J. P. Honeybee health and losses in Brazil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 55. 2011. Disponível em: <http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/73/58>. ISSN: 2179-6645.

TENNEKES, H. A. The significance of the Druckrey-Küpfmüller equation for risk assessment - the toxicity of neonicotinoid insecticides to arthropods is reinforced by exposure time. **Toxicology**, v. 276, n. 1, p. 1-4. 2010. Disponível em: <http://www.farmlandbirds.net/sites/default/files/Tennekes_2010_Toxicology_17.pdf>. DOI: 10.1016/j.tox.2010.07.005.

TENNEKES, H. A. The significance of the Druckrey-Küpfmüller equation for risk assessment—the toxicity of neonicotinoid insecticides to arthropods is reinforced by exposure time: responding to a letter to the editor by Drs. C. Maus and R. Nauen of Bayer CropScience. **Toxicology**, v. 280, p. 173-175. 2011. Disponível em: <http://www.boerenlandvogels.nl/sites/default/files/Tennekes_2010b.pdf>. DOI: 10.1016/j.tox.2010.11. 015.

TENNEKES, H. The systemic insecticides: A disaster in the making. **Experimental Toxicology Services Nederland**, Zutphen, The Netherlands: Ed. Hampshire Beekeepers Association Convention. 2012. Disponível em: <http://www.disasterinthemaking.com>.

TENNEKES, H. A.; SÁNCHEZ-BAYO, F. Time-dependent toxicity of neonicotinoids and other toxicants: implications for a new approach to risk assessment. **Journal of Environmental and Analytical Toxicology**, v. 4, n. 1, p. 1-8. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0525.S4-001>. DOI: 10.4172/2161-0525.S4-001.

TENNEKES, H. A.; SÁNCHEZ-BAYO, F. The molecular basis of simple relationships between exposure concentration and toxic effects with time. **Toxicology**, v. 309, p. 39-51. 2013. Disponível em: <http://smallbluemarble.org.uk/wp-content/uploads/2013/06/ Tennekes_Sanchez-Bayo_Toxicology_2013_8.pdf>. DOI: 10.1016/j.tox 2013.04.007.

THANY, S. H.; GAUTHIER, M. Nicotine injected into the antennal lobes induces a rapid modulation of sucrose threshold and improves short-term memory in the honeybee *Apis mellifera*. **Brain Research**, v. 1039, n. 1-2, p. 216-219. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899305001435>. DOI: 10.1016/j.brainres.2005.01.056.

THANY, S. H.; LENAERS, G.; CROZATIER, M.; ARMENGAUD, C.; GAUTHIER, M. Identification and localization of the nicotinic acetylcholine receptor alpha3, mRNA in the brain of the honeybee, *Apis mellifera*. **Insect Molecular Biology**, v. 12, n. 3, p. 255-262. 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/7238309_Thany_S_Lenaers_G_Crozatier_M_Armengaud_C_and_Gauthier_M_Identification_and_localization_of_the_nicotinic_acetylcholine_receptor_alpha3_mRNA_in_the_brain_of_the_honeybee_Apis_mellifera_Insect_Mol_Biol>. DOI: 10.1046/j.1365-2583.2003.00409.x.

THOMPSON, H. M.; MAUS, C. The relevance of sublethal effects in honeybee testing for pesticide risk assessment. **Pest Management Science**, v. 63, n. 11, p. 1058-1061. 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/5963086_The_relevance_of_sublethal_effects_in_honey_bee_testing_for_pesticide_risk_assessment>. DOI: 10.1002/ps.1458.

THORBEK, P.; CAMPBELL, P. J.; THOMPSON, L. M. Using BEEHAVE to explore pesticide protection goals for European honeybee (*Apis mellifera* L.) worker losses at different forage qualities. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 254-264. 2017a. Disponível em: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.3504>. DOI: 10.1002/etc.3504.

THORBEK, P.; CAMPBELL, P. J.; SWEENEY, P. J.; THOMPSON, L. M. Colony impact of pesticide-induced sublethal effects on honeybee workers: a simulation study using BEEHAVE. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 3, p. 831-840. 2017b. Disponível em: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.3581>. DOI: 10.1002/etc.3581.

TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 176, p. 1-66. 2003. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/11025121_Fipronil_Environmental_Fate_Ecotoxicology_and_Human_Health_Concerns>. DOI: 10.1007/978-1-4899-7283-5_1.

TOCCHETTO, M. R. L. Toxicologia e segurança de laboratório. **Química Industrial e Ambiental**, UFSM - Universidade Federal de Santa Maria. 2014. Disponível em: < http://marta.tocchetto.com/2014/01/aula-5-agentes-quimicos.html>.

TOMÉ, H. V. V.; MARTINS, G. F.; LIMA, M. A. P.; CAMPOS, L. A. O.; GUEDES, R. N. C. Imidacloprid-induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **PLoS One**, v. 7, n. 6, e38406, p. 1-8. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0038406&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0038406.

TOMIZAWA, M.; LEE, D. L.; CASIDA, J.E. Neonicotinoid insecticides: molecular features conferring selectivity for insects versus mammalian nicotinic receptors. **Journal of Agricultural e Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 6016-6024. 2000. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000873c>. DOI: 10.1021/jf000873c.

TOMIZAWA, M.; CASIDA J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 247-268. 2005. Disponível em: <http://de.institut-fuer-bienenkunde.de/Data/Sites/17/tomizawaannrevpharmtoxicol-2005.pdf>. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095930.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoids insecticides: highlights of a symposium on strategic molecular designs. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 2883-2886. 2011. Disponível em: <http://lnmcfungi.wikispaces.com/file/view/nuevos+insecticidas+a+base+de+nicotina2011.pdf>. DOI: 10.1021/jf103856c.

TOSI, S.; BURGIO, G.; NIEH, J. C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. **Nature Scientific Reports**, v. 7, n. 1201, p. 1-8. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-01361-8>. DOI: 10.1038/s41598-017-01361-8.

TSVETKOV, N.; SAMSON-ROBERT, O.; SOOD, K.; PATEL, H. S.; MALENA, D. A.; GAJIWALA, P. H.; MACIUKIEWICZ, P.; FOURNIER, V.; ZAYED, A. Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. **Science**, v. 356, n. 6345, p. 1395-1397. 2017. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/356/6345/1395>. DOI: 10.1126/science.aam7470.

UJVÁRY, I. Nicotine and other insecticidal alkaloids. In: YAMAMOTO, I.; CASIDA, J. **Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor**. Tokyo: Springer, 1999. p. 29-70. 300p. Disponível em: <http://members.iif.hu/ujvary/Pubs/Ujvary1999_nicotine-insecticidalalkaloids.pdf>. DOI: 10.1007/978-4-431-67933-2.

UNESP; UFSCAR. Mapeamento de abelhas participativo. Relatório 2014-2017. In: SINDIVEG: **Projeto Colmeia Viva**. 2018. 64p. Disponível em: <http://projetocolmeiaviva.org.br/wpcontent/uploads/2018/10/Relatorio_final_WEB-30abr2018.pdf>.

US-EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Fipronil. New Pesticide Fact Sheet. US-EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1996. Disponível em: <https://www.fluoridealert.org/wp-content/pesticides/fipronil.epa.facts.may.1996.htm>.

US-EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Index to pesticide types and families. 2014. Disponível em: <http://www.epa.gov/sites/production/files/2015-01/documents/pesticide-types.pdf>.

US-EPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Terms & Acronyms. Agrochemical. 2016. Disponível em: <http://ofmpub.epa.gov/reports/rwservlet?termepa&report=termReport.jsp&desformat=PDF&mimetype=application/pdf&p_report_id=14158&p_criteria=>.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. CCD Action Plan. 2007. Disponível em: <https://www.ars.usda.gov/is/br/ccd/ccd_actionplan.pdf>.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. CCD Progress Report. 2009. Disponível em: <https://www.ars.usda.gov/is/br/ccd/ccdprogressreport.pdf>.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Report on the National Stakeholder. **Conference…**2012. Disponível em: <https://www.usda.gov/documents/ReportHoneyBeeHealth.pdf>.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. U.S. pollination-services market. 2014. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/media/1679173/special-article-september_-pollinator-service-market-4-.pdf>.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. U.S. Cost of pollination. 2017. Disponível em: <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/CostPoll/CostPoll-12-21-2017.pdf>.

VALDOVINOS-NÚÑEZ, G. R.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G.; ANCONA-XIU, P.; MOO-VALLE, H.; CARMONA, A.; SÁNCHEZ, E. R. Comparative toxicity of pesticides to stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 5, p. 1737-1742. 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/38064467_Comparative_Toxicity_of_Pesticides_to_Stingless_Bees_Hymenoptera_Apidae_Meliponini>. DOI: 10.1603/029.102.0502.

VAN DER SLUIJS, J. P.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; VAN LEXMOND, M. F. I. J. B.; BONMATIN, J-M.; CHAGNON, M.; DOWNS, C. A.; FURLAN, L.; GIBBONS, D. W.; GIORIO, C. ; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M; LONG, E.; MCFIELD, M.; MINEAU, P.; MITCHELL, E. A. D.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; PISA, L.; SETTELE, J.; SIMON-DELSO, N.; STARK, J. D.; TAPPARO, A.; VAN DYCK, H.; VAN PRAAGH, J.; WHITEHORN, P. R.; WIEMERS, M. Conclusions of the worldwide integrated assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 148-154. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs113 56-014-3229-5>. DOI: 10.1007/s11356-014-3229-5.

VAN DER SLUIJS, J. P.; SIMON-DELSO, N.; GOULSON, D.; MAXIM, L.; BONMTIN, J-M.; BELZUNCES, L. P. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 5, n. 3-4, p. 293-305. 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877343513000493>. DOI: 10.1016/j.cosust.2013.05.007.

VAN DER ZEE, R.; BRODSCHNEIDER, R.; BRUSBARDIS, V.; CHARRIÈRE, J-D.; CHLEBO, R.; COFFEY, M. F.; DAHLE, B.; DRAZIC, M. M.; KAUKO, L.; KRETAVICIUS, J.; KRISTIANSEN, P.; MUTINELLI, F.; OTTEN, C.; PETERSON, M.; RAUDMETS, A.; SANTRAC, V.; SEPPÄLÄ, A.; SOROKER, V.; TOPOLSKA, G.; VEJSNÆS, F.; GRAY, A. Results of international standardized beekeeper surveys of colony losses for winter 2012-2013: analysis of winter loss rates and mixed effects modelling of risk factors for winter loss. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 1, p. 19-34. 2014. Disponível em: <http://strathprints.strath.ac.uk/46987/1/JAR_53_1_02.pdf>. DOI: 10.3896/ibra.1.53.1.02.

VAN DER ZEE, R.; GRAY, A.; HOLZMANN, C.; PISA, L.; BRODSCHNEIDER, R.; CHLEBO, R.; COFFEY, M. F.; KENCE, A.; KRISTIANSEN, P.; MUTINELLI, F.; NGUYEN, B. K.; NOUREDDINE, A.; PETERSON, M.; SOROKER, V.; TOPOLSKA, G.; VEJSNÆS, F.; WILKINS, S. Standard survey methods for estimating colony losses and explanatory risk factors in *Apis mellifera*. In: V Dietemann; J D Ellis; P Neumann (Eds.) The COLOSS BEEBOOK, Volume II: Standard methods for Apis mellifera research. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1-35. 2013. Disponível em: <http://www.coloss.org/documents/beebook-pdfs/jar-52-4-18-1.pdf>. DOI: 10.3896/ibra. 1.52.4.18.

VAN DER ZEE, R.; PISA, L.; ANDONOV, S.; BRODSCHNEIDER, R.; CHARRIÈRE, J-D.; CHLEBO, R.; COFFEY, M. F.; CRAILSHEIM, K.; DAHLE, B.; GAJDA, A.; GRAY, A.; DRAZIC, M. M.; HIGES, M.; KAUKO, L.; KENCE, A.; KENCE, M.; KEZIC, N.; KIPRIJANOVSKA, H.; KRALJ, J.; KRISTIANSEN, P.; HERNANDEZ, R. M.; MUTINELLI, F.; NGUYEN, B. K.; OTTEN, C.; ÖZKIRIM, A.; STEPHEN F PERNAL, S. F.; PETERSON, M.; RAMSAY, G.; SANTRAC, V.; SOROKER, V.; TOPOLSKA, G.; UZUNOV, A.; VEJSNÆS, F.; SHI WEI, S.; WILKINS, S. Managed honeybee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-2009 and 2009–2010. **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 1, p. 100-114. 2012. Disponível em: <http://www.itsap.asso.fr//downloads/jar_51_1_12l.pdf>. DOI: 10.3896/ibra.1.51.1.12.

VAN GESTEL, C. A. M.; DE LIMA E SILVA, C.; LAM, T.; KOEKKOEK, J. C.; LAMOREE, M. H.; VERWEIJ, R. A. Multigeneration toxicity of imidacloprid and thiacloprid to *Folsomia candida*. **Ecotoxicology**, v. 26, n. 3, p. 320-328. 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10646-017-1765-8>. DOI: 10.1007/s10646-017-1765-8.

VANDAME, R.; MELED, M.; COLIN, M-E.; BELZUNCES, L. P. Alteration of the homing-flight in the honeybee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 855-860. 1995. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/229457377_Alteration_of_the_homing-flight_in_the_honey_bee_Apis_mellifera_L_Exposed_to_sublethal_dose_of_deltamethrin>. DOI: 10.1002/etc.5620140517.

VANENGELSDORP, D.; COX-FOSTER, D.; FRAZIER, M.; OSTIGUY, N.; HAYES, J. **Fall-Dwindle Disease**: **Investigations into the Causes of Sudden and Alarming Colony Losses Experienced by Beekeepers in the fall of 2006**, 22 p. First Revision: January 5, 2007. Harrisburg, PA, USA: Pennsylvania Department of Agriculture. The Pennsylvania State University, 2007. Disponível em: <http://www.beekeep ing.com/articles/us/ccd.pdf>.

VANENGELSDORP, D.; EVANS, J.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D. R.; PETTIS, J. S. Colony Collapse Disorder: a descriptive study. **PlosOne**, v. 4, n. 8, e6481, p. 1-17. 2009. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0006481&type=printable>. DOI: 10.1371/journal.pone.0006481.

VANENGELSDORP, D.; HAYES, J.; UNDERWOOD, R. M.; PETTIS, J. A survey of honeybee colony losses in the U.S., fall 2007 to spring 2008. **PLoS ONE**, v. 3, n. 12, e4701, p. 1-6. 2008. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0004071&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0004071.

VANENGELSDORP, D.; MEIXNER, M. D. A historical review of managed honeybee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, Supplement, p. S80-S95. 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201109001827>. DOI: 10.1016/j.jip.2009.06.011.

VANENGELSDORP, D.; BRODSCHNEIDER, R.; BROSTAUX, Y.; VAN DER ZEE, R.; PISA, L.; UNDERWOOD, R.; LENGERICH, E. J.; SPLEEN, A.; NEUMANN, P.; WILKINS, S.; BUDGE, G. E.; PIETRAVALLE, S.; ALLIER, F.; VALLON, J.; HUMAN, H.; MUZ, M.; LE CONTE, Y.; CARON, D.; BAYLIS, K.; HAUBRUGE, E.; PERNAL, S.; MELATHOPOULOS, A.; SAEGERMAN, C.; PETTIS, J. S.; NGUYEN, B. K. Calculating and Reporting Managed Honey Bee Colony Losses. In: SAMMATARO, D; YODER, J. A. **Honey bee colony health: challenges and sustainable solutions**. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011. p. 237-244. 315p. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/235257057_Calculating_and_Reporting_Managed_Honey_Bee_Colony_Losses>. DOI: 10.1201/b111318-21.

VANENGELSDORP, D.; LENGERICH, E.; SPLEEN, A.; DAINAT, B.; CRESSWELL, J.; BAYLISS, K., NGUYEN, B. K.; SOROKER, V.; UNDERWOOD, R.; HUMAN, H.; LE CONTE, Y.; SAEGERMAN, C. Standard epidemiological methods to understand and improve *Apis mellifera* health. In: DIETEMANN, V.; ELLIS, J. D.; P NEUMANN, P. (Eds.) The COLOSS BEEBOOK: Volume II: Standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1-16. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.15>.

VELTHUIS, H. H. W.; VANDOORN, A. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. **Apido logie**, v. 37, n. 4, p. 421-451. 2006. Disponível em: <http://www.apidologie.org/articles/apido/abs/2006/04/m6028/m6028.html>. DOI: 10.1051/apido:2006019.

VIDAU, C.; DIOGON, M.; AUFAUVRE, J.; FONTBONNE, R.; VIGUÈS, B.; BRUNET, J-L.; TEXIER, C.; BIRON, D. G.; BLOT, N.; EL ALAOUI, H.; BELZUNCES, L. P.; DELBAC, F. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. **PLoS One**, v. 6, n. 6, e21550, p. 1-8. 2011. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0021550&representation=PDF>. DOI: 10.1371/jornal.pone.0021550.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de abelhas sem ferrão**, ISPN - Instituto Sociedade, População e Natureza: Brasília. 2012.

VOGEL, G. Where have all the insects gone? **Science**, v. 356, n. 6338, p. 576-579. 2017. Disponível em: <http://science-sciencemag-org.ez13.periodicos.capes.gov.br/content/sci/365/6338/576.full.pdf>. DOI: 10.1126/science.356.6338.576.

WAGNER, S. D.; KUROBE, T.; HAMMOCK, B. G.; LAM, C. H.; WU, G.; VASYLIEVA, N.; GEE, S. J.; HAMMOCK, B. D.; TEH, S. J. Developmental effects of fipronil on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) embryos. **Chemosphere**, v. 166, n. 1, p. 511-520. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516312590?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.069.

WATSON, R. T. Foreword. In: IPBES - **The assessment report on pollinator, pollination and food production**. 2016.

WCC – WORLD CONSERVATION CONGRESS – **Res-137-EN**. Support for a comprehensive scientific review of the impact on global biodiversity of systemic pesticides by the joint task force of the IUCN Species Survival Commission (SSC) and the IUCN Commission on Ecosystem Management (CEM). Jeju, Korea, 2012. Disponível em: <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/resrecfiles/WCC_2012_RES_137_EN.pdf>.

WETTSTEIN, F. E.; KASTEEL, R.; GARCIA DELGADO, M. F.; HANKE, I.; HUNTSCHA, S.; BALMER, M. E.; POIGER, T.; BUCHELI, T. D. Leaching of the neonicotinoids thiamethoxam and imidacloprid from sugar beet seed dressings to subsurface tile drains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 33, p. 6407-6415. 2016. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jafc.6b02619>. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02619.

WHITEHORN, P. R.; O'CONNOR, S.; WACKERS, F. L.; GOULSON, D. Neonicotinoid pesticide reduces bumblebee colony growth and queen production. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 351-352. 2012. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/content/336/6079/351>. DOI: 10.1126/science.1215025.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. DDT and its derivatives. **Environmental Health Criteria, Series 9**. Geneva: WHO, 1979. 194 p. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc009.htm>.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Health topics. Pesticides. 2015. Disponível em: < http://www.who.int/topics/pesticides/en/>.

WIEST, L.; BULETÉ, A.; GIROUD, B.; FRATTA, C.; AMIC, S.; LAMBERT, O.; POULIQUEN, H.; ARNAUDGUILHEM, C. Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography**, v. 1218, n. 34, p. 5743-5756. 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967311009204>. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.06.079.

WIKIMEDIA. Fórmula estrutural da Epibatidina. 2015a. Disponível em: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/32/(%2B)>.

WIKIMEDIA. Fórmula estrutural do Desnitro-imidacloprid. 2015b. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Desnitro-imidacloprid.svg>.

WILLIAMS, I. H. The pollination requirements of swede rape (*Brassica napus* L.) and of turnip rape (*Brassica campestris* L.). **The Journal of Agricultural Science**, v. 91, n. 2, p. 343-348. 1978. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-agricultural-science/article/the-pollination-requirements-of-swede-rape-brassica-napus-l-and-of-turnip-rape-brassica-campestris-l/DFD03D3ECD297210D9B9318725DC27A9>. DOI: 10.1017/S0021859600046438.

WOOD, T.; GOULSON, D. **The environmental risks of neonicotinoids pesticides: a review of the evidence post-2013**. Paris: Greenpeace France, 2017. p. 7-8. 87p. Disponível em: <https://www.greenpeace.ch/wp-content/uploads/2017/01/neonicotinoid-pesticides_final_single_web_FINAL.pdf>.

WOODCOCK, B. A.; ISAAC, N. J. B.; BULLOCK, J. M.; ROY, D. B.; GARTHWAITE, D. G.; CROWE, A.; PYWELL, R. F. Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. **Nature Communications**, v. 7, n. 12459, p. 1-8. 2016. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/ncomms12459>. DOI: 10.1038/ncomms12459.

WOODCOCK, B. A.; BULLOCK, J. M.; SHORE, R. F.; HEARD, M. S.; PEREIRA, M. G.; REDHEAD, J.; RIDDING, L.; DEAN, H.; SLEEP, D.; HENRYS, P.; PEYTON, J.; HULMES, S.; HULMES, L.; SÁROSPATAKI, M.; SAURE, C.; EDWARDS, M.; GENERSCH, E.; KNÄBE, S.; PYWELL, R. F. Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. **Science**, v. 356, n. 6345, p. 1393-1395. 2017. Disponível em: <http://science.sciencemag.org/content/356/6345/1393>. DOI: 10.1126/science.aaa1190.

WU, J. Y., ANELLI, C. M.; SHEPPARD, W. S. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honeybee (*Apis mellifera*) development and longevity. **PLoS One**, v. 6, n. 2, e14720, p. 1-11. 2011. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0014720&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0014720.

WU, J. Y.; SMART, M. D.; ANELLI, C. M.; SHEPPARD, W. S. Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 109, n. 3, p. 326-329. 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201112000080>. DOI: 10.1016/j.jip.2012.01.005.

WU, M. C.; CHANG, Y. W.; LU, K. H.; YANG, E. C. Gene expression changes in honey bees induced by sublethal imidacloprid exposure during the larval stage. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 88, p. 12-20. 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.comdirect.com/science/article/pii/S0965174817301005?via=ihub>. DOI: 10.1016/j.ibmb.2017.06.016.

WU-SMART, J.; SPIVAK, M. Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. **Scientific Reports**, v. 6, n. 32108, p 1- 11. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep32108.pdf>. DOI: 10.1038/srep32108.

XU, T.; DYER, D. G.; MCCONNELL, L. L.; BONDARENKO, S.; HEINEMANN, O.; ALLEN, R. Clothianidin in agricultural soils and uptake into corn pollen and canola nectar after multiyear seed treatment applications. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 311-321. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4736462/pdf/ETC-35-311.pdf>. DOI: 10.1002/etc.3281.

YAMADA. T.; YAMADA, K.; WADA, N. Influence of dinotefuran and clothianidin on a bee colony. **Japan Journal of Clinical Ecology**, v. 21, n. 1, p. 10-23. 2012. Disponível em: <http://www.bijensterfte.nl/sites/default/files/Influence of dinotefuran & clothianidin on a bee colony_Jpn J clin Ecol Vol21, No1, 10-23(2012).pdf>.

YAMAMOTO, P. T.; ROBERTO, S. R.; DALLA PRIA, W. Inseticidas sistêmicos aplicados via tronco para controle de *Oncometopia facialis*, *Phyllocnistis citrella* e *Toxoptera citricida* em citros. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 415-420. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/sa/v57n3/2669.pdf>. DOI: 10.1590/S0103-901620000003 00007.

YANG, E. C.; CHUANG, Y. C.; CHEN, Y. L.; CHANG, L. H. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honeybee (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 6, p. 1743-1748. 2008. Disponível em: <http://ntur.lib.ntu.edu.tw/bitstream/246246/186257/1/10.pdf>. DOI: 10.1603/0022-0493-101.6.1743.

YANG, E. C.; CHANG, H. C.; WU, W. Y.; CHEN, Y. W. Impaired olfactory associative behavior of honeybee workers due to contamination of imidacloprid in the larval stage. **PLoS One**, v. 7, n. 11, e49472, p. 1-8. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0049472&representation=PDF>. DOI: 10.1371/journal.pone.0049472.

YASUDA, M.; SAKAMOTO, Y.; GOKA, K.; NAGAMITSU, T.; TAKI, H. Insecticide susceptibility in Asian honey bees (*Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae)) and implications for wild honey bees in Asia. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 2, p. 447-452. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/tox032>.

ZEIDLER, O. I. Verbindungen von Chloral mit Brom- und Chlorbenzol. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 7, n. 2, p. 1180-1181. 1874. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/230295753_I_Verbindungen_von_Chloral_mit_Brom-_und_Chlorbenzol>. DOI: 10.1002/cber.18740070278.

ANEXOS

ANEXO I – Ofício nº. 51/2015/DQAM/SMCQ/MMA de 29 de junho de 2015

Ministério do Meio Ambiente
Secretaria de Mudanças Climáticas e Qualidade Ambiental
Departamento de Qualidade Ambiental na Indústria
SEPN 505 Bloco B, Edf. Marie Prendi Cruz, CEP:70.730-542 - Brasília/DF
FONE: (61) 2028-2070. FAX: (61) 2028-2908

Ofício n.º 51/2015/DQAM/SMCQ/MMA

Brasília, 29 de junho de 2015

Ao Senhor
LIONEL SEGUI GONÇALVES
Presidente do Centro Tecnológico de Apicultura e Meliponicultura do Rio Grande do Norte – CETAPIS
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Av. Francisco Mota, 572, Bairro Costa e Silva
59625-900 – Mossoró/RN

Assunto: **Resposta à Petição pela Proteção às Abelhas, Dossiê da Campanha "SEM ABELHA, SEM ALIMENTO", da Organização BEE OR NOT TO BE, que relata os resultados aferidos pelo aplicativo BEE ALERT.**

Senhor Presidente,

1. Acusamos o recebimento da Petição pela Proteção às Abelhas e dos resultados parciais colhidos pelo aplicativo Bee Alert, a primeira plataforma online para o registro de ocorrências de morte massiva de abelhas em apiários.

2. O Ministério do Meio Ambiente (MMA) congratula a iniciativa e parabeniza pelo significativo número de assinaturas obtido. Consideramos o tema de grande relevância, pois reconhecemos os benefícios que a proteção das abelhas gera a toda sociedade brasileira.

3. Ademais, julgamos pertinente mencionar algumas iniciativas visando a proteção das abelhas no país, que se coadunam com os objetivos da Campanha "Sem Abelha, Sem Alimento", tais como o Projeto "Conservação e Manejo de Polinizadores para uma Agricultura Sustentável, através da Abordagem Ecossistêmica", sobre o qual o MMA manteve contato estreito com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e auxiliou no planejamento e na sua execução junto à FAO, Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e Fundo Global para o Meio Ambiente (GEF).

4. Este projeto, que teve início em 2010 e encerrou-se neste ano, envolveu a participação de sete países (África do Sul, Brasil, Gana, Índia, Nepal, Paquistão e Quênia), e objetivou melhorar a segurança alimentar e nutricional e os modos de vida por meio da conservação e uso sustentável dos polinizadores. No Brasil, foi apoiada a realização de muitas atividades, em especial os estudos em áreas de cultivo de algodão, caju, canola, castanha-do-brasil, maçã, melão e tomate, assim como eventos para a divulgação e capacitação sobre o tema. Vale também destacar o apoio à publicação de 13 materiais educativos para um público amplo e diversificado.[1]

5. Em 30 e 31 de março de 2015, ocorreu em Brasília-DF o evento que marcou o encerramento do Projeto no Brasil. Este evento recebeu 115 pessoas, dentre apicultores, meliponicultores, estudantes, professores, pesquisadores, órgãos governamentais, entidades privadas e da sociedade civil. Ao final, houve um diálogo entre os presentes para subsidiar os "Contornos para uma Política Pública sobre Polinizadores". O encaminhamento desse diálogo foi constituir uma força-tarefa para delinear um documento orientador, contando com a participação de representantes dos órgãos governamentais, da academia, de entidades da sociedade civil organizada e do setor produtivo presentes no evento. A força-tarefa divide-se em três grupos para trabalhar nos eixos: 1) agrotóxicos e controle de seu uso; 2) valorização da meliponicultura; e 3) reversão da perda de biodiversidade de polinizadores. Foi constatada também a necessidade de: atualizar as Portarias Interministeriais relativas ao Comitê de Assessoramento da Iniciativa Brasileira de Polinizadores;[2] mobilizar parceiros potenciais para captar recursos financeiros; e propor um programa sobre polinizadores.

6. Cabe também mencionar os esforços do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Sustentáveis (IBAMA) no sentido de prevenir os efeitos adversos a abelhas associados a agrotóxicos do grupo dos neonicotinoides, que desautorizou, em julho de 2012[3], em caráter cautelar, a modalidade de aplicação por pulverização aérea, em todo o território nacional, de agrotóxicos contendo os ingredientes ativos imidacloprido, tiametoxam, clotianidina ou fipronil, isoladamente ou em misturas com outros ingredientes ativos. Também estabeleceu prazo para que as empresas titulares de registro de agrotóxicos anexassem às embalagens dos produtos a serem comercializados ao usuário, folheto complementar ou etiqueta com a seguinte frase de advertência:

> "*Este produto é tóxico para abelhas. A aplicação aérea NÃO É PERMITIDA. Não aplique este produto em época de floração, nem imediatamente antes do florescimento ou quando for observada visitação de abelhas na cultura. O descumprimento dessas determinações constitui crime ambiental, sujeito a penalidades.*"

7. Estabeleceu-se também em 2012, por iniciativa do IBAMA, a abertura do processo de reavaliação ambiental do ingrediente ativo imidacloprido (Nome químico: 1-(6-

---

[1] Disponível em http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/57-polinizadores; acesso em 7 de maio de 2015.

[2] Portarias Interministeriais nº 218, de 20 de agosto de 2004; nº 178, de 29 de maio de 2009; nº 431, de 9 de dezembro de 2009.

[3] Diário Oficial da União, de 19 de julho de 2012, seção 3, pág. 112 – Comunicado IBAMA.

chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine), tendo em vista que, dentre os ingredientes ativos acima citados, este tem sido o mais amplamente utilizado no Brasil.

8. A partir de janeiro de 2013, até o encerramento do correspondente processo de reavaliação ambiental, passaram a estar proibidas as aplicações de agrotóxicos à base de imidacloprido, tiametoxam, clotianidina e fipronil durante a floração das culturas independentemente da tecnologia empregada. Essa medida sofreu flexibilizações, cujos detalhes podem ser consultados no Diário Oficial da União[4]. No caso das aplicações autorizadas, os produtores rurais devem notificar os apicultores localizados em um raio de 6 km das propriedades onde os produtos serão aplicados, com antecedência mínima de 48 horas.

9. Dando continuidade aos trabalhos de reavaliação ambiental de agrotóxicos, em abril de 2014, o IBAMA estabeleceu a abertura do processo de reavaliação dos ingredientes ativos tiametoxam (Nome químico: 3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmenthyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine) e clotianidina (Nome químico: (E)-1-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-3-methyl-2-nitroguanidine)[5]. A possibilidade de abertura do processo de reavaliação do fipronil está sendo analisada.

10. Ainda, citamos a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (PNAPO), que foi instituída pelo Decreto Federal nº 7.794, de 20 de agosto de 2012, tendo como uma de suas diretrizes a promoção da soberania e segurança alimentar e nutricional e do direito humano à alimentação adequada e saudável, por meio da oferta de produtos orgânicos e de base agroecológica isentos de contaminantes que ponham em risco a saúde. Um dos instrumentos dessa política é o Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (PLANAPO). No âmbito do PLANAPO, na perspectiva de fomentar a transição agroecológica por um número cada vez maior de produtores, a substituição de agrotóxicos convencionais por insumos de baixa toxicidade e de origem biológica, foi elaborada a proposta de Programa Nacional de Redução de Agrotóxicos (PRONARA), desenvolvida pelo Grupo de Trabalho sobre Agrotóxicos, da Comissão Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (CNAPO).[6] Essa proposta foi apreciada e aprovada pela CNAPO em agosto de 2014, e para ser lançada aguarda a avaliação por todos os Ministérios envolvidos na temática.[7]

11. Por último, destacamos a publicação da Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção, por meio da Portaria MMA nº 444, de 17 de dezembro de 2014,[8] na qual constam quatro espécies de abelhas, todas classificadas na categoria "Em Perigo (EN)": (1) *Melipona* (*Michmelia*) *capixaba* (uruçu-preto); (2) *Melipona* (*Michmelia*) *rufiventris*

---

[4] Diário Oficial da União, de 4 de janeiro de 2013, seção 1, pág. 10 – Instrução Normativa Conjunta MAPA nº 1; Diário Oficial da União, de 5 de dezembro de 2013, seção 1, página 7 – Instrução Normativa Conjunta MAPA nº 30.

[5] Diário Oficial da União, de 10 de abril de 2014, seção 3, pág. 129 – Comunicado IBAMA nº 1.

[6] Disponível em http://www.secretariageral.gov.br/atuacao/brasil-agroecologico/comissao-nacional-de-agroecologia-e-producao-organica; acesso em 7 de maio de 2015.

[7] Disponível em http://www.agroecologia.org.br/index.php/noticias/noticias-para-o-boletim/681-comissao-nacional-de-agroecologia-aprova-programa-nacional-de-reducao-de-agrotoxicos; acesso em 7 de maio de 2015.

[8] Diário Oficial da União, de 18 de dezembro de 2014, seção 1, págs. 121-126.

(tujuba); (3) *Melipona* (*Michmelia*) *scutellaris* (uruçu) e (4) *Partamona littoralis* (nome popular desconhecido).

12. Por serem reconhecidas por essa Portaria, as espécies ficam protegidas de modo integral, sendo que a captura, o transporte, o armazenamento, a guarda e o manejo de seus exemplares poderão ser permitidos para fins de pesquisa ou para a conservação da espécie, mediante autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO). Já o beneficiamento e a comercialização ficam proibidos. Entretanto, essas restrições não se aplicam a exemplares reproduzidos em cativeiros devidamente licenciados por órgão ambiental competente, em conformidade com Planos de Ação Nacionais para Conservação de Espécies Ameaçadas de Extinção (PAN), quando existentes. Os PAN são elaborados pelo ICMBIO, com a finalidade de definir ações *in situ* (no habitat natural) e *ex situ* (fora do habitat natural) para a conservação e recuperação dessas espécies

13. Diante do exposto, fica evidente a existência de ações relevantes voltadas ao combate à perda de abelhas no país e é nosso maior interesse dar continuidade a essas iniciativas e ampliá-las de modo que a reversão da perda das populações de polinizadores seja executada com prioridade.

14. No mais, nos colocamos à disposição para eventuais esclarecimentos e para colaborar com os objetivos da Campanha "Sem Abelha, Sem Alimento".

Atenciosamente,

LETÍCIA REIS DE CARVALHO
Diretora do Departamento de Qualidade Ambiental na Indústria

ANEXO II – Questionário de registro de perdas de colônias (opcional ao aplicativo *online*)

APLICATIVO BEE ALERT

SOBRE O APLICATIVO

O aplicativo Bee Alert Geolocator é a primeira plataforma de identificação por geolocalização de ocorrências de Morte ou Perdas Expressivas de Abelhas em apiários. Os dados coletados são fornecidos pelos próprios produtores ou pela comunidade científica, numa atividade colaborativa (*crowdsourcing*). Os dados inseridos serão validados pela equipe de organizadores da campanha "Bee or not to Be?", e serão posteriormente reunidos e compartilhados em publicações científicas. Esta iniciativa está inserida no contexto da campanha "Bee or not to be?" em proteção às abelhas, liderada pelo CETAPIS, através do cientista e pesquisador Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves.

Para conhecer a versão eletrônica acesse: www.semabelhasemalimento.com.br/beealert

QUESTIONÁRIO BEE ALERT

Olá,

Você está recebendo uma cópia do questionário para coleta dos dados para o registro de ocorrências de mortes ou perdas expressivas de abelhas em seu apiário. Compartilhar as informações é de fundamental importância para que o problema possa ser observado e documentado. Ao final do preenchimento destes dados, envie o arquivo para beealert@semabelhasemalimento.com.br

DADOS CADASTRAIS
Por favor, preencha corretamente todos os campos
* Nome Completo:
* Email:
* País:
* Estado:
* Cidade:
* CEP:
* Telefone Fixo: ( )
* Celular: ( )

*Como exerce sua atividade com as abelhas?
Selecionar...
( ) Produtor Profissional
( ) Produtor Amador ou Hobby
( ) Pesquisador
( ) Associação

*Com que tipo de abelhas você trabalha?
Selecionar...
( ) Apis
( ) Meliponíneos
( ) Mamangavas (Bombus)
( ) Abelhas solitárias

*Indique os produtos ou atividades de exploração
Selecionar...
( ) Mel
( ) Geleia Real
( ) Pólen
( ) Própolis
( ) Produção de rainhas
( ) Produção de enxames
( ) Aluguel de colmeias para polinização
( ) Realização de Pesquisas

Autorizo o uso e a divulgação das ocorrências do CCD: ( ) Sim ( ) Não

DADOS DA OCORRÊNCIA:
INÍCIO
Registrar as ocorrências de morte ou perdas de abelhas em seu apiário é uma das melhores formas de protegê-las. Os dados fornecidos serão utilizados exclusivamente para fins estatísticos e científicos. Obrigado por participar.

1o. PASSO
As respostas a seguir devem se referir ao apiário ou meliponário no momento da ocorrência do desaparecimento ou perda de abelhas.
*Indique a Data da ocorrência (DD/MM/AAAA): _____/_____/_____

2o. PASSO

Indique o local exato de seu apiário no momento da ocorrência do desaparecimento ou perda de abelhas

Indique os dados de seu apiário:
* País:
* Cidade:
* Estado:
* CEP:
* Endereço:
* Fazenda:
* Se possível, indique a localização no GPS:
Latitude:
Longitude:

Quanto à localização do apiário, indique se é um
( ) Apiário Fixo
( ) Apiário Itinerante ou Migratório

Autoriza o compartilhamento desta informação diretamente no Aplicativo:
( ) Sim
( ) Não

3o. PASSO

a) Indique o Total de Colmeias no Apiário ou Meliponário: _____

b) Indique abaixo a **quantidade** de colmeias afetadas, pelo grau de intensidade de perda de abelhas.
Total de colmeias afetadas: _____

Do total de colmeias afetadas, indique:

- Perda até 30%
Quantidade de colmeias com baixa perda de abelhas: _____

- Perda de +30% a 60%
Quantidade de colmeias com perda parcial das abelhas.: _____

- Perda de +60% a 100%
Quantidade de colmeias com perda alta ou total.:_____

4o. PASSO

*Identifique as causas mais prováveis do desaparecimento ou perda de abelhas em seu apiário:
Selecionar...
( ) Ácaros ou parasitas (Ex.: Varroa)
( ) Doenças (vírus, bactérias, fungos)
( ) Manejo, clima, desnutrição
( ) Pesticidas e inseticidas (defensivos agrícolas)
( ) Outros ou desconhecido
Se mencionou defensivos agrícolas acima, indique:

*Notou a aplicação de defensivos em culturas próximas ao apiário?
( ) **Não**
( ) **Sim**

Em quais culturas:_____

Indique o defensivo utilizado (Nome comum ou commercial):_____

*Indique o tipo de abelha afetada
Selecionar
( ) Apis
( ) Meliponíneos
( ) Mamangava (Bombus)
( ) Abelhas solitárias

Indique as principais floradas visitadas pelas abelhas de seu apiário ou meliponário na época da ocorrência:_____

*Você é o proprietário ou responsável pelo apiário onde houve o desaparecimento de abelhas?
( ) **Não**
( ) **Sim**

Se "NÃO", indique o NOME e DADOS DE CONTATO do proprietário do apiário para fins de validação das informações por nossa equipe:
_____

Informe o valor estimado de seu prejuízo com a perda de enxames (**No. de colônias perdidas x valor comercial): R$ _____**

Anote outras informações que julgar relevante:
_____

Indique se houve divulgação pública da ocorrência e especifique o meio (jornal/TV/internet, etc):
_____

Separe e envie, junto com este questionário, também seus arquivos de foto ou vídeo que demonstram a ocorrência do fenômeno do CCD.
Caso tenha dúvidas ou sugestões, envie um e-mail para **beealert@semabelhasemalimento.com.br**
Entre no site e vote também na Petição Pela Proteção às abelhas:
www.semabelhasemalimento.com.br
Muito obrigado por sua participação.
Sua iniciativa será de grande valia para que o problema envolvendo o declínio dos polinizadores possa ser dimensionado e registrado para uso científico.
Equipe Bee Alert.

ANEXO III – Localização das coletas de abelhas mortas para análise de resíduos de agrotóxicos

Nº	Data	Latitude / Longitude	Endereço	Estado	Atividade	Tipo
1	jun-16	-21.2555154 / -52.0362749	Brasilândia, zona rural – CEP: 79.679-899	MS	apicultor	fixo
2	mar-16	-22.1401242 / -47.3688446	Rua Municipal 1, nº 9.784-10.468, Leme, CEP: 13.610-000	SP	apicultor	fixo
3	mar-17	-22.0798631 / -47.3327024	Estrada Vicinal Rafael Rosolem, Pirassununga - CEP: 13.630-000	SP	apicultor	fixo
4	jun-17	-22.1083182 / -47.3095436	Rua Municipal [1], 9784-10468, Leme, CEP: 13.610-000	SP	hobby	móvel
5	ago-16	-27.7207390 / -48.9239409	BR-282,nº 25108. Águas Mornas CEP: 88.150-000	SC	apicultor	fixo
6	jun-16	-20.6852728 / -55.2919567	Dois Irmãos do Buriti, CEP: 79.215-000	MS	apicultor	fixo
7	dez-16	-6.0853776 / -35.1524527	Sitio Timbó - Nísia Floresta CEP: 59.164-000	RN	apicultor	fixo
8	ago-16	-27.7207390 / -48.9239409	BR-282,nº 25108. Águas Mornas CEP: 88.150-000	SC	apicultor	fixo
9	mar-17	-21.9964647 / -47.4261942	Pirassununga - CEP: 13.630-000	SP	apicultor	fixo
10	jun-16	-20.6852728 / -55.2919567	Dois Irmãos do Buriti, CEP: 79.215-000	MS	apicultor	fixo
11	nov-16	-6.1048928 / -35.2030666	Sítio Manguezais - Nísia Floresta CEP: 59.164-000	RN	apicultor	fixo
12	mar-16	-22.1401242 / -47.3688446	Rua Municipal 1, nº 9.784-10.468, Leme, CEP: 13.610-000	SP	apicultor	fixo
13	out-16	-20.5803069 / -46.9472861	Apiário Mundo Novo. Zona Rural. Cássia - CEP: 37.989-899	MG	apicultor	fixo
14	out-16	-20.5803069 / -46.9472861	Apiário Mundo Novo. Zona Rural. Cássia - CEP: 37.989-899	MG	apicultor	fixo
15	nov-16	-20.2055339 / -54.4670874	Fazenda Acácia. Rod. BR-163, km. 433. Jaraguari - CEP: 79.440-000	MS	hobby	fixo
16	set-17	-22.0211489 / -47.4270708	Rua Teotônio Vilela,1460 - Jd. Lauro Pozzi - Pirassununga - CEP:13.633-323	SP	apicultor	fixo
17	jun-17	-22.1083182 / -47.3095436	Rua Municipal [1], 9784-10468, Leme, CEP: 13.610-000	SP	hobby	móvel
18	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
19	set-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
20	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
21	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
22	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
23	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
24	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Jaraguari	MS	apicultor	móvel
25	nov-16	-20,1368611 / -54,5688611	Sítio Recanto, Jaraguarí	MS	apicultor	móvel
26	fev-17	-20.9339953 / -54.9740826	Sidrolândia	MS	apicultor	fixo
27	fev-17	-22,9346454 / -55,5970053	Aral Moreira	MS	apicultor	fixo
28	fev-17	-22,9346454 / -55,5970053	Aral Moreira	MS	apicultor	fixo
29	abr-17	-14,6234692 / -57,4938358	Tangará da Serra	MT	apicultor	fixo
30	abr-17	-14,6234692 / -57,4938358	Tangará da Serra	MT	apicultor	fixo
31	mar-17	-22.2235610 / -54.8125486	Dourados, CEP: 79.800-000	MS	apicultor	fixo
32	mar-17	-22.2235610 / -54.8125486	Dourados, CEP: 79.800-000	MS	apicultor	fixo
33	mar-17	-22.2235610 / -54.8125486	Dourados, CEP: 79.800-000	MS	apicultor	fixo
34	dez-17	-30.3598149 / -53,3598671	BR-290, 4 km depois do município de Vila Nova do Sul - CEP: 96.589-899	RS	apicultor	fixo
35	jun-17	-28,5065439 / -53,8380614	Ijui, CEP: 98.700-899	RS	apicultor	fixo
36	set-16	-21.2259576 / -51.3982918	Rodovia Municipal, Guaraçaí, CEP: 16.980-000	SP	apicultor	fixo
37	set-16	-21.2204392 / -51.4959873	Rod. Euclídes de Figueiredo, 1 - Junqueirópolis, CEP: 17.890-000	SP	apicultor	fixo
38	dez-16	-5.0267700 / -37.3259670	RN13, km 22. Ass. Pe. Cícero - Mossoró	RN	apicultor	fixo

ANEXO IV – Protocolo de extração de neonicotinóides e fipronil em abelhas africanizadas

1. Triturar 10 abelhas em homogeneizador (3 beads/ 3000 ciclos/ 3 min.)
2. Pesar 100 mg de abelha aproximadamente em 1 micro-tubo com vedação
3. Anotar o peso
4. Adicionar 200µL padrão interno (IS) (1.000 pg Tiam d_3, 1.000 pg Clo d_3)
5. Adicionar 400 µL de H_2O filtrada em osmose reversa
6. Homogeneizar por 30 s/ 3000 ciclos
7. Adicionar 300 µL de ACN padrão HPLC
8. Homogeneizar por 30 segundos
9. Agitar em vortex por 10 min./ 300 rpm
10. Adicionar 250 mg de $MgSO_4/C_2H_3O_2Na$ (4:1) (sulfato de magnésio/acetato de sódio)
11. Homogeneizar imediatamente por 30 segundos para evitar que o magnésio empedre
12. Agitar em vortex por 5 min./ 300 rpm
13. Centrifugar (13.000 g/ 5min./ 20 ^oC)
14. Remover sobrenadante com seringa contendo 150 mg de $MgSO_4$/ PSA/ C-18 (1:1:1)
15. Homogeneizar por 30 segundos
16. Filtrar com filtro de seringa 0,22 µm x 13 mm PTFL para Eppendorf 1 (fundo redondo).
17. Anotar volume recuperado
18. Centrifugar (13.000 g/ 10 min./ 20 ^oC)
19. Em algumas extrações podem ser observadas uma fase lipídica acima do sobrenadante que deve ser descartada antes da transferência para o inserto de injeção no HPLC
20. Caso não seja observada fase lipídica evaporar em N_2 em Eppendorf 1
21. Caso seja observada fase lipídica retirar sobrenadante com pipeta Gilson 20-200 µL
22. Depositar sobrenadante em vial em vial para secagem
23. Anotar volume recuperado
24. Evaporar em N_2
25. Reconstituir em 120 µL de ACN:H_2O (3:7)
26. Transferir sobrenadante para insertos para análise
27. Armazenar vial em freezer a -20 ^oC, no escuro, até o momento da análise em HPLC

Notas:

- USAR SOMENTE MATERIAL DE CONSUMO DESCARTÁVEIS

- Foi escolhida a reconstituição da extração em ACN:H_2O (3:7) porque os neonicotinóides e o fipronil não apresentaram problemas de solubilização de analitos mais hidrofóbicos.

- g = RCF (Relative Centrifuge Force)
  $g = 1,12 \times r_{(mm)} \times (rpm/1000)^2$.

ANEXO V – Índices de contaminação em triplicata detectados nas amostras de abelhas analisadas

		Índice de contaminação (ng/g)							
Tratamento	Repetição	Ace	Clo	Din	Imi	Nit	Tia	Tiam	Fip
1	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<2,7	22,7
1	b	<LD	<LD	2,5	<LD	<LD	<LD	<LD	19,7
1	c	<LD	<LD	<2,2	<LD	<LD	<LD	<LD	4,3
2	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<2,1	7,6
2	b	<LD	<LD	23,6	<4,2	<LD	<LD	<LD	<0,7
2	c	<LD	<LD	<1,8	<LD	<LD	<LD	<LD	<1,2
3	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<2,6
3	b	<LD	<LD	2,2	<3,6	<LD	<LD	<LD	0,9
3	c	<LD	<LD	<1,9	<LD	<LD	<LD	<LD	<1,3
4	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
4	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
4	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
5	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
5	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
5	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
6	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
6	b	<LD	<LD	2,9	<LD	<LD	<LD	<0,9	<LD
6	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<1,7	<LD
7	a	<LD	<LD	<1,1	<LD	<LD	<LD	<LD	6,7
7	b	<LD	<LD	2,2	<LD	7,4	<LD	<LD	<LD
7	c	<LD	<LD	1,9	<LD	<LD	<LD	<LD	<1,2
8	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
8	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
8	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
9	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
9	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
9	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
10	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
10	b	<LD	<LD	<LD	<LD	3,8	<LD	<LD	<LD
10	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
11	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
11	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
11	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
12	a	<LD	<LD	<0,6	<2,4	<LD	<LD	0,6	<LD
12	b	<LD	<LD	3,0	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
12	c	<LD	<LD	2,5	<LD	<LD	<LD	8,2	<LD
13	a	<LD	<LD	0,8	<LD	<LD	<LD	<0,7	105,4
13	b	<LD	<LD	1,6	<LD	<LD	<LD	<0,8	144,1
13	c	<LD	<LD	<1,3	<LD	<LD	<LD	2,4	323,0
14	a	<LD	<LD	<0,7	<LD	<LD	<LD	0,8	1.660,8
14	b	<LD	<LD	1,2	<3,0	<LD	<LD	1,5	10.003,0
14	c	<LD	<LD	2,6	<3,4	<LD	<LD	1,0	18.625,5
15	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	34,0
15	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	22,8
15	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	18,6
16	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	63,9
16	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	4,8
16	c	<2,1	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	9,2
17	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,6	3,7
17	b	<1,3	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<0,8	49,9
17	c	<2,0	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<1,2	<0,8
18	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	11,0
18	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,2
18	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<0,8
19	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<2,4
19	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,5
19	c	<LD	<LD	<LD	<5,3	<LD	<LD	<LD	4,1

ANEXO V – (continuação)

Tratamento	Repetição	Índice de contaminação (ng/g)							
		Ace	Clo	Din	Imi	Nit	Tia	Tiam	Fip
20	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
20	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
20	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
21	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<1,8
21	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
21	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,1	<0,8
22	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<0,6
22	b	<LD	<LD	205,0	<LD	<LD	<LD	<LD	<0,6
22	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,2
23	a	<LD	<LD	6,0	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
23	b	<LD	<LD	1,1	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
23	c	<LD	<LD	1,5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
24	a	<LD	<LD	2,8	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
24	b	<LD	<LD	4,5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
24	c	<LD	<LD	3,7	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
25	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
25	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
25	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
26	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	8,7
26	b	<LD	<LD	<LD	<4,0	<LD	1,6	13,6	18,5
26	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	15,5
27	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,8	11.145,4
27	b	<LD	<LD	<LD	<2,7	<LD	<LD	1,8	9.129,5
27	c	<LD	<LD	<LD	<4,1	<LD	<LD	<1,0	23.539,7
28	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	71,0
28	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<0,8	201,5
28	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	2,0	306,3
29	a	<LD	<LD	<LD	<5,6	<LD	<LD	6,1	4,9
29	b	<LD	<LD	<LD	4,5	<LD	<LD	3,2	5,6
29	c	<LD	<LD	<LD	5,4	<LD	<LD	2,9	2,0
30	a	<LD	<LD	<LD	<7,0	<LD	<LD	7,6	2,2
30	b	<LD	<LD	<LD	<4,0	<LD	<LD	5,1	131,1
30	c	<LD	<LD	<LD	<4,2	<LD	<LD	4,5	7,0
31	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,6
31	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	5,9
31	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,7
32	a	<LD	<LD	3,7	<LD	<LD	<LD	<LD	7,4
32	b	<LD	<LD	<0,8	<LD	<LD	<LD	<LD	18,5
32	c	<LD	<LD	<1,0	<LD	<LD	<LD	<LD	47,2
33	a	<LD	<LD	<4,6	<LD	<LD	<LD	<LD	12,2
33	b	<LD	<LD	3,4	<LD	<LD	<LD	<LD	<0,5
33	c	<LD	<LD	2,3	<LD	<LD	<LD	<LD	33,1
34	a	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	94,2
34	b	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	237,8
34	c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	415,8
35	a	<LD	<LD	<LD	<2,8	<LD	<LD	1,5	4.715,1
35	b	<LD	<LD	<LD	<3,4	<LD	<LD	1,2	11.266,2
35	c	<LD	<LD	<LD	<4,3	<LD	<LD	2,9	22.470,9
36	a	<LD	<LD	13,1	<LD	<LD	<LD	<4,7	301,9
36	b	<LD	<LD	1,5	<LD	<LD	<LD	<LD	15,1
36	c	<LD	<LD	2,2	<LD	<LD	<LD	1,1	29,1
37	a	<LD	<LD	1,1	<LD	<LD	<LD	<LD	13,0
37	b	<LD	<LD	<0,9	<LD	<LD	<LD	<LD	6,6
37	c	<LD	<LD	12,0	<LD	<LD	<LD	<LD	9,4
38	a	<LD	<LD	47,2	<LD	<LD	<LD	<1,9	6,1
38	b	<LD	<LD	1,5	12,0	<LD	<LD	<LD	11,3
38	c	<LD	<LD	<0,9	16,2	<LD	<LD	1,3	2,7

Ace = acetamipride; Clo = clotianidina; Din = dinotefuran; Imi = imidaclopride; Nit = nitenpiram; Tia = tiaclopride; Tiam = tiametoxam; Fip = fipronil.