



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO



POLYANA MAYUME PEREIRA DA SILVA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO GLIFOSATO EM ABELHAS
***Apis mellifera* UTILIZANDO O ENSAIO DO COMETA, HISTOPATOLOGIA E**
ANÁLISES ENZIMÁTICAS

Campo Grande – MS

2025

POLYANA MAYUME PEREIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO GLIFOSATO EM ABELHAS
Apis mellifera UTILIZANDO O ENSAIO DO COMETA, HISTOPATOLOGIA E
ANÁLISES ENZIMÁTICAS**

*EVALUATION OF THE GENOTOXIC POTENTIAL OF GLYPHOSATE IN *Apis mellifera* BEES USING COMET ASSAY, HISTOPATHOLOGY AND ENZYMATIC ANALYSES*

**POLYANA MAYUME PEREIRA DA
SILVA**

Orientador: ALDA IZABEL DE SOUZA

Co-orientador: RODRIGO ZALUSK

RAQUEL SOARES JULIANO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias

Campo Grande – MS

2025

Dedico esta tese e essa conquista aos meus pais, Marina e Aildo, a minha irmã Pamylla, meu esposo João e meus meninos Bento e Matheus meus maiores incentivadores. Foi graças a torcida e apoio a mim oferecidos que consegui alcançar voos cada vez mais altos. Minhas palavras não serão suficientes para expressar a minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Deus, primeiramente, que sempre foi meu guia para os melhores caminhos, que me fortalece e me dá sabedoria.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC, pelo suporte no aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

À mesa de arguição e suplentes, por cada contribuição e pelo tempo destinado à leitura desta dissertação.

Aos meus orientadores- Professora Alda Izabel de Souza e Professor Rodrigo Zaluski e Raquel Soares Juliano, por me incentivarem e apoiarem neste estudo.

Às equipes e amigos dos Laboratórios de Patologia Clínica, Parasitologia, Apicultura e Biologia Molecular- FAMEZ/UFMS.

Ao meu esposo João, que me impulsionou e não me deixou desistir.

Ao meu filho Bento, razão do meu viver e de querer ser melhor 1% todos os dias.

A todos os familiares e amigos que de maneira direta ou indireta me ajudaram nesse caminho e torceram por mim.

Obrigada!

“Assim é a vida
Cada pedra, uma lição
Cada dificuldade uma prova
Cada alegria uma vitória
Cada decepção uma nova chance de recomeçar
Assim como toda vírgula muda uma frase,
uma atitude muda uma história.”

Autor desconhecido.

1 SILVA, P.M.P, **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO GLIFOSATO EM**
2 **ABELHAS *Apis mellifera* UTILIZANDO O ENSAIO DO COMETA,**
3 **HISTOPATOLOGIA E ANÁLISES ENZIMÁTICAS. DOUTORADO.** Programa de Pós-
4 Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
5 Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul,
6 2025.

8 RESUMO

9 Este estudo fornece uma análise abrangente dos efeitos genotóxicos e de estresse
10 oxidativo causados pela exposição ao glifosato em *Apis mellifera*, comumente
11 conhecidas como abelhas. Utilizando ensaios de cometas, a pesquisa avaliou quebras
12 nas cadeias de DNA, enquanto biomarcadores de estresse oxidativo (superóxido
13 dismutase e catalase) foram medidos por análises enzimáticas. Além disso,
14 avaliações histopatológicas foram realizadas para observar alterações nos tecidos,
15 particularmente no sistema digestivo. O estudo teve como objetivo explorar a relação
16 dependente da dose entre a exposição ao glifosato e os efeitos biológicos observados.
17 Os resultados indicaram um impacto genotóxico significativo, com fragmentação do
18 DNA aumentando proporcionalmente às concentrações mais altas de glifosato. Os
19 testes enzimáticos revelaram um aumento no estresse oxidativo, evidenciado por
20 alterações na atividade das enzimas antioxidantes, e o exame histopatológico
21 destacou danos nos tecidos intestinais, sugerindo a presença de disfunções digestivas
22 e metabólicas nas abelhas. Esses resultados ressaltam os efeitos prejudiciais do
23 glifosato nas abelhas, mostrando como a exposição a esse herbicida pode
24 desestabilizar processos fisiológicos essenciais e ameaçar as populações de abelhas.
25 A pesquisa enfatiza o papel vital de *Apis mellifera* como bioindicadoras da saúde
26 ambiental e apela para a implementação de práticas agrícolas sustentáveis. O estudo
27 defende políticas voltadas para a proteção dos polinizadores e a promoção da
28 biodiversidade, fundamentais para a manutenção de serviços ecossistêmicos como a
29 polinização. Por fim, os resultados sugerem que a proteção da saúde das abelhas é
30 essencial não apenas para a conservação ecológica, mas também para garantir a
31 segurança alimentar e a sustentabilidade agrícola a longo prazo.

32 **Palavras-chave:** *Apis mellifera*, glifosato, genotoxicidade, estresse oxidativo,
33 polinização.

34
35
36 SILVA, P.M.P., **EVALUATION OF THE GENOTOXIC POTENTIAL OF**
37 **GLYPHOSATE IN *Apis mellifera* BEES USING COMET ASSAY,**

HISTOPATHOLOGY AND ENZYMATIC ANALYSES Postgraduate Program in Veterinary Sciences. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2025.

ABSTRACT

This study investigates the genotoxic and oxidative stress effects of glyphosate, a widely used herbicide, on *Apis mellifera* bees. Employing a multidisciplinary approach, the research utilized comet assays to evaluate DNA strand breaks, enzymatic analyses for oxidative stress biomarkers (superoxide dismutase and catalase), and histopathological evaluations to identify structural and cellular alterations in the bees' tissues. The primary aim was to assess the dose-dependent relationship between glyphosate exposure and the observed damage, providing insights into the ecological and economic implications of this herbicide on pollinators. The results indicate significant genotoxicity, with increased DNA fragmentation proportional to glyphosate concentrations. Furthermore, enzymatic analyses revealed heightened oxidative stress, evidenced by altered activities of antioxidant enzymes. Histopathological examinations demonstrated intestinal tissue damage, suggesting compromised digestive and metabolic functions. These findings collectively highlight the herbicide's potential to disrupt key physiological processes in bees, thereby threatening their survival and the essential ecosystem services they provide, such as pollination. The study underscores the critical role of *A. mellifera* as bioindicators for environmental quality and the urgent need for sustainable agricultural practices. By offering robust scientific evidence, this research aims to support policy formulation that prioritizes pollinator health, biodiversity preservation, and long-term agricultural productivity. The implications extend beyond ecological conservation, addressing global concerns over food security and environmental sustainability.

Keywords: *Apis mellifera*, glyphosate, genotoxicity, oxidative stress, pollination, sustainability.

LISTA DE FIGURAS

68		
69		
70	Figura 1 Sexos e castas da abelha <i>Apis mellifera</i>	15
71	Figura 2. Estrutura química do glifosato	19
72	Figura 3 Equilíbrio entre a produção de espécies reativas do metabolismo do	
73	oxigênio (EROs) e sistema antioxidante.	29
74	Figura 4 Intestino dos insetos e suas divisões	34
75	Figura 5 Alterações histológicas no intestino médio de <i>Apis mellifera</i> africanizada	
76	após 96 horas de exposição ao glifosato. Coloração: Hematoxilina-Eosina	58
77	Figura 6 Alterações histológicas no intestino médio de <i>Apis mellifera</i> africanizada	
78	após 120 horas de exposição ao glifosato. Coloração: Hematoxilina-Eosina	62
79	Figura 7 Avaliação do dano ao DNA pelo ensaio do cometa em células de A.	
80	<i>mellifera</i> após 96 horas de exposição ao glifosato	66
81		
82		

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeito das concentrações 50,100 e 200 µg/µL na atividade das enzimas SOD e CAT (µg/µL) em macerados de abelhas <i>A. mellifera</i> após 96 horas de ensaio	63
Tabela 2 - Efeito das concentrações 50,100 e 200 µg/µL na atividade das enzimas SOD e CAT (µg/µL) em macerados de abelhas <i>A. mellifera</i> após 120 horas de ensaio.	64
Tabela 3 - Efeito das concentrações 50,100 e 200 µg/µL nas alterações do teste do ensaio do cometa em macerados de abelhas <i>A. mellifera</i> após 96 horas de ensaio.	65
Tabela 4 - Efeito das concentrações 50,100 e 200 µg/µL nas alterações do teste do ensaio do cometa em macerados de abelhas <i>A. mellifera</i> após 120 horas de ensaio.	65

116

117

SUMÁRIO

118	CAPÍTULO I	10
119	1 INTRODUÇÃO.....	10
120	2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
121	2.1 IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS NA POLINIZAÇÃO E NA AGRICULTURA BRASILEIRA	12
122	2.2 ABELHAS DO GÊNERO <i>Apis mellifera</i>	14
123	3.0 ABELHAS COMO BIOINDICARES DA QUALIDADE AMBIENTAL.....	17
124	3.1 O USO DO AGROTOXICO NO BRASIL.....	18
125	3.2 GLIFOSATO	19
126	3.3 IMPACTOS DO GLIFOSATO SOBRE ORGANISMOS NÃO-ALVO	22
127	3.4 IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS NAS ABELHAS	23
128	3.5 BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL UTILIZANDO TESTES GENOTOXICOS	24
129	3.5.1 Testes de genotoxicidade em insetos	25
130	3.5.2 O uso do ensaio do cometa para avaliação de danos ao DNA	27
131	4 TESTES DE ESTRESSE OXIDATIVO	28
132	4.1 SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD).....	30
133	4.2 CATALASE	31
134	5 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM ABELHAS EXPOSTAS A	
135	AGROTÓXICOS.....	33
136	6 OBJETIVOS.....	35
137	6.1 OBJETIVO GERAL	35
138	6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
139	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	36
140	CAPÍTULO II	49
141	7 ANÁLISE DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO GLIFOSATO EM ABELHAS APIS	
142	MELLIFERA POR MEIO DO ENSAIO DO COMETA, HISTOPATOLOGIA E	
143	AVALIAÇÕES ENZIMÁTICAS.....	49
144	RESUMO.....	49
145	8 INTRODUÇÃO.....	50
146	9 MATERIAIS E MÉTODOS	51

147	9.1 LOCAL DO EXPERIMENTO.....	51
148	9.2 COLETA E ACONDICIONAMENTO DAS ABELHAS.....	52
149	9.3 DILUIÇÃO DO GLIFOSATO E EXPOSIÇÃO DAS ABELHAS.....	52
150	9.4 PROCESSAMENTO DE ÓRGÃOS E ANÁLISE HISTOPATOLOGICA.....	53
151	9.5 ENSAIO ENZIMÁTICO.....	53
152	9.6 PROTOCOLO ENSAIO DO COMETA.....	54
153	9.7 PREPARO DAS LÂMINAS.....	55
154	9.8 TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE LISE.....	55
155	9.9 ELETROFORESE.....	55
156	10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	56
157	11 RESULTADOS.....	56
158	11.1 HISTOPATOLÓGICO.....	56
159	11.2 TESTES ENZIMÁTICOS.....	63
160	11.3 ENSAIO DO COMETA.....	65
161	12 DISCUSSÃO.....	66
162	13 CONCLUSÃO.....	70
163	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	71
164		

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

As abelhas, especialmente a espécie *Apis mellifera*, desempenham um papel importante na polinização de plantas cultivadas e silvestres, sendo fundamentais para a manutenção dos ecossistemas e para a produção agrícola. Aproximadamente 75% das culturas agrícolas globais dependem, ao menos parcialmente, da polinização animal, e no Brasil, as abelhas têm impacto direto na produtividade de cultivos essenciais, como café, soja, laranja e algodão (Klein et al., 2007). A contribuição desses polinizadores é inestimável tanto para a biodiversidade quanto para a economia, considerando que a polinização eficiente aumenta a produtividade e melhora a qualidade dos produtos agrícolas. A perda ou redução dessas populações ameaça tanto a estabilidade dos ecossistemas quanto a viabilidade econômica do agronegócio brasileiro.

Contudo, o uso intensivo de agrotóxicos nas práticas agrícolas representa uma ameaça crescente para a saúde das abelhas e para a manutenção dos serviços ecossistêmicos que elas prestam. O glifosato, um dos herbicidas mais amplamente utilizados no mundo, tem despertado preocupações não apenas por seus efeitos na vegetação não-alvo, mas também pelo potencial impacto negativo em organismos como as abelhas. Estudos indicam que, embora seja classificado como de baixa toxicidade para humanos, o glifosato pode causar danos subletais às abelhas, prejudicando seu comportamento e sua capacidade de navegação e aumentando o risco de colapso das colônias (Balbuena et al., 2015; Helmer et al., 2015; Herbert et al., 2014; Motta et al., 2018). Assim, torna-se urgente avaliar o impacto dessa substância na saúde das abelhas para garantir sua preservação e a continuidade dos serviços ecológicos e econômicos.

Este estudo busca avaliar a toxicidade do glifosato em abelhas *Apis mellifera* por meio de uma abordagem multidisciplinar. Além do ensaio do cometa, utilizado para detectar quebras no DNA em células individuais, foram realizados testes enzimáticos de superóxido dismutase (SOD) e catalase para avaliar o estresse oxidativo causado pelo herbicida (Betteridge, 2000). Essas enzimas são cruciais na defesa antioxidante das células, e a alteração na sua atividade pode indicar a presença de estresse oxidativo, frequentemente associado à exposição a xenobióticos. Adicionalmente,

foram investigadas alterações histopatológicas no tecido intestinal das abelhas, fornecendo uma visão detalhada dos impactos subcelulares e estruturais provocados pelo glifosato.

Partimos da hipótese de que o glifosato é genotóxico para as abelhas, causando quebras no DNA detectáveis pelo aumento da porcentagem de DNA na cauda do cometa. Além disso, espera-se que a exposição ao herbicida induza estresse oxidativo, refletido pela alteração na atividade das enzimas SOD e catalase (Barreiros et al., 2006a). Também consideramos que concentrações mais elevadas de glifosato irão resultar em danos mais pronunciados, tanto nos testes genotóxicos quanto nas análises de estresse oxidativo e alterações histopatológicas, caracterizando uma relação dose-dependente entre a concentração do herbicida e o nível de danos observados (Magalhães et al., 2008; Giesy et al., 2000).

Compreender o impacto do glifosato é essencial para mitigar os riscos associados ao uso desse herbicida e preservar as populações de abelhas e os serviços de polinização (Moraes, 2019; Junior et al., 2002). No contexto brasileiro, onde a agricultura é uma das principais atividades econômicas, a perda de polinizadores pode gerar prejuízos significativos, afetando diretamente a produtividade agrícola e a economia. Além disso, a redução das populações de abelhas comprometeria a biodiversidade local, prejudicando a resiliência dos ecossistemas diante das mudanças ambientais.

Este trabalho tem o objetivo de fornecer evidências científicas sólidas sobre os efeitos do glifosato nas abelhas, subsidiando futuras decisões regulatórias e práticas agrícolas mais sustentáveis. Dessa forma, espera-se contribuir para a formulação de políticas públicas que garantam a preservação dos polinizadores e a continuidade dos serviços ecossistêmicos e econômicos essenciais

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS NA POLINIZAÇÃO E NA AGRICULTURA BRASILEIRA

A polinização de aproximadamente 90% das plantas cultivadas e silvestres em zonas tropicais são dependentes das abelhas (Ollerton et al., 2011). O processo de polinização pode acontecer pelo vento ou através da visitação destes insetos nas flores, circunstância que propociona a transferência de grãos de pólen para os estigmas de outras flores (Barbosa et al., 2018; Garibaldi et al., 2013).

As abelhas do gênero *Apis mellifera*, são polinizadoras generalistas, visitando uma ampla variedade de plantas. Esta característica é fundamental para a manutenção de ecossistemas saudáveis, pois promove a reprodução de várias espécies vegetais, o que, por sua vez, proporciona alimento e habitat para muitos outros organismos. Segundo Costa e Oliveira, 2013, a polinização por abelhas aumenta a diversidade genética das plantas, conferindo-lhes maior resistência a doenças e a mudanças ambientais, o que é vital para a estabilidade dos ecossistemas.

A abelha melífera ocidental *Apis mellifera* é comumente indicada pelos agricultores, devido ao grande número de indivíduos por colônia, longo raio de voo e capacidade de percorrer vastas distâncias em busca de recursos alimentares. Essas características a consagram como potenciais polinizadoras de um substancial número de flores e extensas áreas de cultivo, que podem ser beneficiadas por meio de uma polinização direcionada (Klein et al., 2007).

Na agricultura, a polinização por *Apis mellifera* é essencial para a produção de muitas culturas alimentares. Klein et al., 2007, afirmam que aproximadamente 75% das principais culturas alimentares mundiais dependem, pelo menos em parte, da polinização animal, sendo as abelhas *Apis mellifera* um dos principais agentes polinizadores.

A colaboração dos polinizadores nas principais culturas comercializadas no Brasil, tanto para exportação como para o mercado interno gera um lucro de aproximadamente US\$ 12 bilhões de dólares ao ano, o que assegura a produção e manutenção de diversas culturas agrícolas, estimula o agronegócio no país e movimenta grande parte da economia (Brittain & Potts, 2011; Giannini et al., 2015; Kremen, 2005).

Apesar da importância para polinização, nos últimos anos o desaparecimento de abelhas em áreas agrícolas tem-se intensificado, sendo o uso de pesticidas, principalmente inseticidas neonicotinóides, uma das principais causas apontadas para o declínio dos polinizadores (Freitas et al., 2009; Leonhardt et al., 2013; Tan et al., 2022).

Em várias partes do planeta, estudos tem demonstrado as perdas anuais de colônias de abelhas melíferas, enfatizando as dificuldades contínuas dos apicultores em manter a saúde e a sobrevivência geral das colônias. (Maha Apícola, 2024), documentaram os resultados de pesquisa nos E.U.A em três anos (2017–18, 2018–19 e 2019–20). Os autores registraram as maiores taxas de perda de colônias no inverno (37,7%) em 2018–2019, enquanto em 2019 as maiores perdas foram notadas no verão (32,1%). Para a espécie *Apis mellifera*, as perdas de colônias chegam a 25% na Europa Central e 59% na América do Norte (Goulson et al., 2015; van Engelsdorp & Meixner, 2010).

Segundo (da Silva, 2020), a diminuição destas espécies está intimamente relacionada a destruição do habitat, referente ao desmatamento, urbanização e queimadas, manejo inadequado, variações climáticas e ao uso excessivo de agrotóxicos. No Brasil, várias espécies de abelhas nativas enfrentam o risco de extinção, sendo elas: *Melipona scutellaris*, conhecida como Uruçu nordestina (Freitas et al., 2009), *Melipona capixaba* (Imperatriz-Fonseca et al., 2010), *Scaptotrigona xanthotricha* (Jaffé et al., 2015), *Melipona rufiventris* (Martins et al., 2014) e *Partamona helleri* (Zanette et al., 2005). Esses dados refletem supostamente a nossa falta de conhecimento sobre o estado de conservação desse grupo.

As principais causas do desaparecimento das abelhas estão relacionadas a perda e fragmentação de habitat, ao uso de pesticidas, às mudanças climáticas e à patógenos (Brown & Paxton, 2009; Kearns et al., 1998). Portanto, entender como importantes ameaças atuam sobre as abelhas poderá contribuir para conservação da diversidade desse grupo e de seus efeitos em cadeias produtivas (Daily & Ellison, 2002).

2.2 ABELHAS DO GÊNERO *APIS MELLIFERA*

A ordem Hymenoptera é a terceira maior em número de espécies da classe Insecta, são representantes popularmente conhecidos como abelhas, marimbondos, vespas e formigas. Por abrigar o maior número de polinizadores, é considerada uma importante classe em termos de conservação de espécies animais (Nogueira-neto, 1997).

A origem provável da abelha *Apis mellifera* é na África, de onde ela se dispersou para a Europa e Ásia (Wiese, 2005). Durante esse processo de migração, as populações de abelhas começaram a se diferenciar, resultando em distintas subespécies. A abelha europeia é representada pela *Apis mellífera mellifera*, enquanto as populações africanas deram origem a outras subespécies (Bargańska et al., 2016). O que atualmente é conhecido como abelha "africanizada" surgiu a partir do cruzamento entre abelhas europeias que migraram para as Américas e as abelhas africanas (Rindere, 1998). Esse híbrido, que combina características das duas subespécies, é o que encontramos no Brasil, onde as abelhas africanizadas dominam grande parte da apicultura (De Oliveira & Cunha, 2005). Com exceção das regiões polares, são encontradas em todas as partes do mundo, incluindo savanas, florestas de clima tropical, desertos, regiões litorâneas e montanhosas (da Silva, 2020).

As abelhas *A. mellifera* possui sua anatomia altamente adaptada, apresentando características específicas. Com o corpo dividido em três partes principais, constituintes de: cabeça, tórax e abdômen. Já os sistemas internos são divididos em digestivo (que é dividido em três regiões principais: intestino anterior, intestino médio e intestino posterior. Cada uma dessas regiões desempenha funções específicas no processo de digestão e absorção de nutrientes), sistema circulatório, nervoso e reprodutivo (Azevedo et al., 2020; Ramos & de Carvalho, 2007)

Em uma colméia, em condições normais, existem aproximadamente 60 mil indivíduos, é formada por três tipos de indivíduos: zangões, rainhas e operárias os quais exercem papéis distintos nesta sociedade (Foguel, 2019). A abelha rainha é responsável pela postura dos ovos após a cópula com o zangão durante o voo nupcial. Já as abelhas operárias são responsáveis por todo o trabalho realizado na colméia (Foguel, 2019).

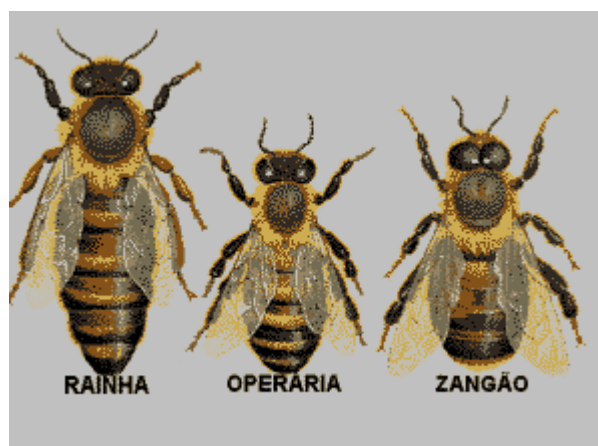


Figura 1 Sexos e castas da abelha *Apis mellifera*

Fonte: <https://www.britannica.com/animal/honeybee>. Acesso em: 29 de julho de 2024

As tarefas das abelhas são divididas de acordo com sua idade fisiológica, onde do 1º ao 5º dia de vida realizam a limpeza dos alvéolos e de abelhas recém-nascidas. Do 5º ao 10º dia, são chamadas de abelhas nutrizas, pois, cuidam da alimentação das larvas em desenvolvimento. Do 11º ao 20º dia, produzem cera para construção de favos e recebem o néctar trazido pelas campeiras, desidratando-o para fabricação do mel. Entre o 18º e 21º dia, realizam a defesa da colmeia, nessa fase, as operárias apresentam os órgãos de defesa bem desenvolvidos, com uma grande quantidade de veneno. A partir do 22º dia, até sua morte aproximadamente 40 º dias de vida, são consideradas campeiras e realizam a coleta de néctar, pólen, resina e água (Page & Peng, 2001).

As abelhas possuem um comportamento conhecido como autolimpeza ou *grooming*, que é fundamental para a manutenção da saúde individual e da colônia. Esse comportamento envolve a remoção de sujeira, parasitas e outros detritos do corpo, utilizando as patas e a boca. A autolimpeza é especialmente importante para a defesa contra parasitas, como o ácaro *Varroa destrutor*, que pode causar sérios danos às abelhas e à colônia se não for controlado. Estudos têm demonstrado que colônias com uma frequência elevada de comportamento de *grooming* têm maior resistência a infestações por parasitas, o que contribui para a sobrevivência e produtividade da colônia (Santos, 2022)

A introdução da *Apis mellifera* no Brasil aconteceu durante o século XIX junto com a imigração europeia. O padre Antônio arneiro trouxe para o Rio de Janeiro, no

349 ano de 1839, as abelhas europeias da *subespécie A. mellifera mellifera*, para
350 produção comercial de mel (Wiese, 2005). Mas, somente no ano de 1956, que a
351 subespécie *A. mellifera scutellata* foi introduzida no Brasil, pelo biólogo Warwick
352 Estevam Kerr, após uma expedição à África, o intuito do pesquisador era realizar a
353 hibridização das espécies com as características mansa das abelhas europeias e a
354 produtividade das abelhas africanas (Wiese, 2005) .

355

356

3.0 ABELHAS COMO BIOINDICARES DA QUALIDADE AMBIENTAL

Bioindicadores são seres vivos de natureza distinta, cuja presença, abundância e condições são possíveis indicativos biológicos de uma determinada condição ambiental. As abelhas, particularmente as do gênero *Apis mellifera*, são amplamente reconhecidas como bioindicadores da qualidade ambiental devido à sua sensibilidade às alterações no ecossistema, incluindo poluição, uso de pesticidas e mudanças climáticas (Woodcock et al., 2017).

A saúde das populações de abelhas representa diretamente a completude ecológica de um ambiente, fornecendo informações importantes sobre o impacto das atividades humanas. Estudos recentes têm demonstrado que a exposição a agrotóxicos, particularmente os neonicotinoides, está relacionado a declínios graves nas populações de abelhas, mostrando seu papel como indicadores de poluição química (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019)

Estudos indicam que o declínio nas populações de abelhas pode sinalizar a degradação ambiental, alertando para a necessidade de ações de conservação e mitigação de impactos negativos. Além disso, a análise de produtos apícolas, como o mel e o pólen, pode fornecer informações detalhadas sobre a presença de contaminantes, oferecendo uma ferramenta prática e eficaz para monitorar a saúde ambiental (Alaux et al., 2010).

O monitoramento das abelhas contribui para a declaração de impacto ecológico, culminando na catalogação de mapas de saúde ambiental (Celli; Accagnani, 2003), em decorrência da sua capacidade de percorrer longas distâncias (podendo variar de 100 metros até 12 km de distância de acordo com gêneros e espécies) (Goulson et al., 2015; Hofmann et al., 2020).

Segundo (Hofmann et al., 2020), estes organismos são importantes objetos de estudos para avaliar a genotoxicidade induzidos pelos xenobióticos com capacidade de reagir com o DNA diretamente ou após a sua ativação metabólica, produzindo danos na estrutura e/ou função do DNA.

Um estudo realizado por Pires et al., 2016 utilizou abelhas *Apis mellifera* como bioindicador para averiguar a presença de pesticidas em áreas agrícolas. Os resultados do estudo indicaram que os resíduos químicos presentes nas abelhas refletiam diretamente a contaminação ambiental, permitindo uma avaliação eficaz dos níveis de poluentes.

Já Ferreira da Silva Neto et al., (2021) estudaram abelhas nativas para monitorar a poluição por metais pesados em regiões industriais. Os resultados alegaram que as abelhas acumulavam metais como chumbo e cádmio, servindo como bioindicadores eficientes da poluição ambiental.

Esses estudos demonstram que as abelhas, devido à sua ecologia e comportamento, são ótimas espécies para bioindicadores da qualidade ambiental.

3.1 O USO DO AGROTOXICO NO BRASIL

O Brasil é um dos maiores produtores agrícolas do mundo e o segundo maior exportador, desempenhando um papel fundamental na economia nacional. Para sustentar essa alta produção, o setor agrícola investe fortemente em sementes transgênicas e insumos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos (Carneiro et al., 2020a). Atualmente, o país é também um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, com uma expansão agrícola que acelerou significativamente na última década (190%), superando o crescimento do mercado global (93%) e colocando o Brasil em primeiro lugar no ranking mundial desde 2008 (ANVISA, 2020).

O uso exacerbado dessas substâncias tem causado sérios danos ambientais, como a contaminação de solos e águas fluviais, além da mortalidade de abelhas, importantes polinizadoras de diversas culturas agrícolas (Cavalcanto Neto; Trovão.; Brito, 2025). Apesar de avanços representados pela Lei dos Agrotóxicos e seus decretos regulamentadores (Brasil, 1990; Brasil, 2002; Brasil, 2006), essas normas não conseguiram alcançar o efeito esperado na proteção da saúde pública e do meio ambiente (Garcia; Bussacos; Fischer., 2005).

Mundialmente, são utilizadas cerca de 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos por ano, enquanto no Brasil o consumo anual supera 300 mil toneladas de produtos comerciais, o que representa um aumento de 700% no consumo de agrotóxicos nos últimos 40 anos, enquanto a área agrícola cresceu apenas 78% no mesmo período (EMBRAPA, 2021). A regulação do uso de agrotóxicos no Brasil continua gerando controvérsias, especialmente em relação à flexibilização promovida pela Proposta de Ementa Constitucional (PEC) 50/2019, que foi amplamente debatida no cenário legislativo brasileiro (Pignati et al., 2017).

A "PEC dos Agrotóxicos", como ficou conhecida, sugeriu mudanças na regulação e análise dos agrotóxicos, visando atualizar e flexibilizar os procedimentos

para o registro e liberação de novos produtos (Leite et al., 2023). De acordo com (Gomes & Caporusso, 2023) a PEC permitiria a liberação mais rápida de produtos mais eficientes e menos agressivos ao meio ambiente. Contudo, (Pignati et al., 2019) alertam que essa flexibilização pode resultar em uma maior exposição da população a substâncias potencialmente nocivas, devido à liberação de produtos cuja segurança ainda não foi completamente comprovada.

A PEC 50/2019 trouxe mudanças significativas ao processo de liberação de agrotóxicos no Brasil, gerando impactos tanto positivos quanto negativos. O equilíbrio entre eficiência e segurança permanece um desafio central para a regulação desses produtos no país (Gaboardi et al., 2023; Lima-Junior et al., 2024).

3.2 GLIFOSATO

O glifosato (N-[fosfonometil]-glicina) ($C_3H_8NO_5P$), refere-se a um herbicida não seletivo de amplo espectro, extensivamente utilizado na agricultura para controlar ervas daninhas (Benbrook, 2016). Desde sua introdução na década de 1970, sob o nome comercial Roundup, ele se tornou o herbicida mais empregado no mundo devido à sua eficácia, baixo custo e à adoção de culturas geneticamente modificadas, (Heap, 2014).

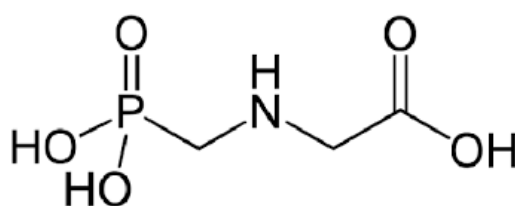


Figura 2. Estrutura química do glifosato

Fonte: Colacite et al., 2020

O glifosato pertence a classe dos herbicidas à base de ácido fosfônico que, segundo Cattani et al., (2014) não causa efeitos deletérios no sistema nervoso como outros produtos da mesma classe, apesar de ser apontado com baixo teor de toxicidade, há evidências de efeitos insalubres no ambiente (Amarante Junior et al., 2002b). No solo, o glifosato é geralmente bloqueado através da adsorção em partículas de argila e matéria orgânica.

Embora seja considerado de baixa variabilidade, pode ser lixiviado para águas subterrâneas em certos tipos de solo, especialmente aqueles com baixa capacidade de adsorção. A degradação microbiana é a principal via de decomposição do glifosato no solo, resultando em produtos como o ácido aminometilfosfônico (AMPA), que também tem sido alvo de preocupação ambiental (Simonsen et al., 2008). No Brasil a concentração máxima de glifosato permitida pela resolução Nº 357, de 17 de março de 2005, para águas de classe tipo I é de 65 µg/L (ppb) (CONAMA, 2009).

A presença deste composto na água e nos alimentos tem sido amplamente estudada, com níveis detectados variando dependendo da localização e das práticas agrícolas. Um estudo realizado nos Estados Unidos pela *Environmental Working Group* (EWG) em 2019 detectou níveis de glifosato na água potável de várias cidades, com concentrações que variavam de 0,1 a 0,6 microgramas por litro (µg/L) (Brown et al., 2020). Já a União Europeia emitiu um relatório em 2018 que indicou a presença do glifosato em 44% das amostras de grão, com concentrações variando de 0,01 até 2,1 mg/kg.

Em um estudo realizado por (Rubio e Emily., 2014), detectou níveis de glifosato que variavam de não detectável até 0,021 miligramas por quilogramas (mg/kg) em amostras de mel. Outro estudo, conduzido por (Motta & Moran, 2023) nos Estados Unidos, detectou níveis de glifosato em mel que variavam de 0,001 até 0,168 mg/kg.

A presença de glifosato no pólen também tem sido documentada. Em um estudo realizado por Botías et al., (2016) na França, foram detectados níveis de glifosato em amostras de pólen que variavam de não detectável até 0,03 mg/kg.

No meio aquático, o glifosato pode afetar organismos não-alvo, incluindo plantas aquáticas e animais. Estudos apontam para possíveis efeitos tóxicos em organismos, como peixes, anfíbios e invertebrados, embora a toxicidade varie dependendo da concentração e da duração da exposição (Giesy et al., 2000). Um estudo realizado por (Balbuena et al., 2015) demonstrou que a exposição ao glifosato pode prejudicar a capacidade de orientação das abelhas. O herbicida tem o potencial de afetar a memória deste inseto, prejudicando sua capacidade de retornar à colmeia após a coleta de néctar.

Já em peixes a exposição a concentrações subletais de glifosato pode causar danos histopatológicos em órgãos como fígado, rins e brânquias. Esses danos

incluem necrose celular, degeneração hepática e hiperplasia das células das brânquias (Szarek et al., 2000).

O glifosato pode ainda, causar impactos negativos na vegetação não-alvo através da derivação da pulverização, ocasionando danos em áreas adjacentes às zonas de aplicação (Winter et al., 2018). A exposição crônica a baixas doses de glifosato pode resultar em mudanças na composição da vegetação, favorecendo espécies resistentes ao herbicida e diminuindo a biodiversidade vegetal. Isso pode ter consequências para os habitats naturais e a fauna dependente dessas plantas.

Battisti et al., (2021), realizaram um estudo de meta-análise entre os anos de 1945 e 2020, aprimorando às possíveis toxicidade do glifosato em abelhas do gênero (*Apis mellifera*), somaram 16 trabalhos com 34 conjuntos de dados, demonstrando a diferença entre os grupos controle e experimentais, comprovando que o glifosato pode causar a morte das abelhas, demonstrando a sua toxicidade.

Porém, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), realizou nova avaliação do glifosato, e concluiu que, este herbicida não apresenta características mutagênicas, teratogênicas, carcinogênicas. Não possui efeito desregulador endócrino e não é tóxico para a reprodução. Afirmando que, não existem evidências científicas de que o glifosato possa causar danos à saúde humana e/ou animal. Determinando, novos parâmetros de referência toxicológicos para avaliação de riscos do glifosato, e através de nota técnica decidiu pela manutenção da comercialização do ingrediente ativo. Como forma de regulamentar os níveis máximos de exposição humana ao herbicida, determinou-se que a dose de ingestão diária aceitável (IDA) via água potável e alimentos seja de 0,5 mg/kg de peso corporal/dia (ANVISA, 2021).

Embora a comercialização deste agrotóxico seja liberada, diversos estudos detectaram efeitos adversos em todas as categorias dos testes toxicológicos. Causando danos crônicos, subcrônicos, agudos, genéticos, efeitos reprodutivos e carcinogênicos em seres humanos (Cox, 1995; Davoren & Schiestl, 2018; Roman et al., 2009).

Zhang et al., (2019), ao realizarem um estudo de meta-análise encontraram uma associação significativa entre a exposição ao glifosato e o aumento no risco de linfoma não- Hodgkin. Em um outro estudo Thongprakaisang et al., (2013), demonstraram que o glifosato induz a proliferação de células cancerígenas em mama humano, através de mecanismos dependentes do receptor de estrogênio.

No meio ambiente, a base de glifosato é rapidamente convertida em seu principal metabólito, o Ácido Amino-Fosfônico (AMPA), que também possui baixa toxicidade, porém de maior persistência. O AMPA está intimamente relacionado ao excesso de divisão celular em vários órgãos além de poder causar a diminuição dos mesmos (Cattani et al., 2014). Sendo apontado como um potente contaminante ambiental, já que sua formulação é hidrossolúvel, existindo vários relatos de sua detecção em águas superficiais e solo (Amarante Junior et al., 2002; Cox, 1995).

3.3 IMPACTOS DO GLIFOSATO SOBRE ORGANISMOS NÃO-ALVO

Estudos sobre os efeitos deletérios dos agrotóxicos têm aumentado nos últimos anos, porém, muitas vezes incompletos referente à sua ação genotóxica (Poletto, 2008). Agrotóxicos são compostos reativos que podem formar ligações covalentes com vários centros nucleofílicos de biomoléculas celulares, atingindo facilmente organismos não alvos (Belchior et al., 2017)

Os efeitos genotóxicos do glifosato e sua formulação comercial Roundup® tem levantado preocupações significativas sobre seus impactos em organismos não-alvo, incluindo plantas, animais e microrganismos que não são o alvo intencional do controle de ervas daninhas (Davoren & Schiestl, 2018)

A ação do glifosato inibe a enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), essencial na via do ácido chiquímico, que é importante para a síntese de aminoácidos aromáticos em plantas (Duke & Powles, 2008). Ao mesmo tempo em que essa via é ausente em animais, a presença de plantas não-alvo em áreas tratadas com glifosato pode resultar em sua morte ou em danos significativos. Zelaya., (2004), demonstrou em um estudo que o glifosato pode ser absorvido pelas raízes e folhas de plantas adjacentes, afetando sua saúde e biodiversidade local.

Giesy et al., (2000), demonstraram que organismos aquáticos, como peixes e anfíbios, são particularmente vulneráveis ao glifosato, especialmente devido à exposição a formulações comerciais que contêm surfactantes, como o polioxietileno amina (POEA), que aumentam a toxicidade do herbicida. Em um outro estudo conduzido Relyea, (2005) demonstrou que, as concentrações subletais de glifosato têm sido associadas a anomalias no desenvolvimento de anfíbios e a alterações no comportamento e na fisiologia de peixes. Além disso, insetos polinizadores, como abelhas, também podem ser afetados pelo glifosato, com evidências sugerindo

impactos na capacidade de navegação e na saúde das colônias (Balbuena et al., 2015).

Em um estudo de avaliação da toxicidade do herbicida glifosato e de seu principal metabólito, AMPA, nos estágios iniciais de desenvolvimento do peixe ameaçado de extinção *Steindachneridion melanodermatum*, De Assumpção (2018), demonstraram uma notável toxicidade aguda de ambos os compostos para os indivíduos, resultando em mortalidade em ambas as fases, embrionária e larval.

Em relação à extensão da contaminação das fontes de água potável, (Panis et al., 2022) promoveram uma avaliação da concentração média de agrotóxicos na água (ppb), bem como da população exposta, englobando 127 municípios produtores de grãos no estado do Paraná, Brasil. Os resultados revelaram uma correlação importante entre os herbicidas glifosato-AMPA e diuron e o total de casos de câncer em humanos registrados no mesmo período de análise.

Em estudo realizado por de Souza et al., (2021) resíduos de glifosato foram quantificados em amostras de mel de cinco estados brasileiros. Seis amostras apresentaram níveis do herbicida acima do limite máximo de resíduos permitido pela União Europeia ($0,05 \mu\text{g}/\text{g}^{-1}$). A identificação de resíduos de glifosato coincidiu com as regiões que reportaram elevadas perdas de colônias de abelhas e ao mesmo tempo, uso frequente do princípio ativo na agricultura.

3.4 IMPACTOS DOS AGROTÓXICOS NAS ABELHAS

O impacto dos agrotóxicos nas abelhas, especialmente na espécie *Apis mellifera*, tem sido amplamente documentado em escala global, evidenciando efeitos profundos na saúde das colônias e contribuindo para o declínio acentuado das populações. Produtos químicos como os neonicotinoides e o herbicida glifosato possuem potencial para afetar o sistema nervoso das abelhas, causando paralisia, morte e interferindo em comportamentos essenciais, como navegação, comunicação e coleta de recursos vitais. Esses prejuízos comprometem diretamente a sobrevivência das colônias (Antunes et al., 2023)

Na União Europeia, evidências científicas levaram à restrição e proibição do uso de neonicotinoides a céu aberto, uma medida voltada para mitigar esses impactos. Entretanto, em países como o Brasil, o uso desses produtos ainda é disseminado, agravando a mortalidade das abelhas. Estudos recentes apontam que,

em casos extremos, a exposição a agrotóxicos pode dizimar centenas de colônias em poucos dias, especialmente quando combinada com outros fatores estressores, como mudanças climáticas e perda de habitat (Greenpeace, 2024).

A intensificação da agricultura, caracterizada pela expansão de grandes monoculturas, aumentou a demanda por agrotóxicos, como o glifosato, reduzindo os habitats naturais das abelhas e prejudicando serviços de polinização essenciais para a produção agrícola sustentável. O uso indiscriminado do glifosato tem provocado impactos graves sobre a saúde e o comportamento das abelhas. Mesmo em doses subletais, esse herbicida altera a microbiota intestinal, essencial para a digestão e imunidade, e compromete habilidades cognitivas, como a navegação, fundamental para o retorno às colmeias após a coleta de alimentos (Antunes et al., 2023)

Esses efeitos, somados, intensificam o declínio populacional das abelhas, ameaçando ecossistemas inteiros e colocando em risco a segurança alimentar global, dado o papel crucial desses insetos na polinização de cultivos agrícolas e na manutenção da biodiversidade (Dicks et al., 2023)

3.5 BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL UTILIZANDO TESTES GENOTOXICOS

Biomonitoramento ambiental refere-se a um modo de avaliar a “saúde” do ambiente, esta técnica envolve o uso de organismos vivos para avaliar mudanças ambientais, geralmente ocasionadas pelo homem (CETESB, 2016). No Pantanal, esta técnica tem sido um método crucial para detectar mudanças na qualidade da água, solo e ar, causadas por poluentes químicos e outras atividades antropogênicas.

Os métodos de biomonitoramento no Pantanal incluem a análise de comunidades biológicas, estudos de bioacumulação e a medição de biomarcadores. O uso de bioindicadores, como peixes, invertebrados aquáticos, insetos, plantas e aves, permite a detecção precoce de alterações ambientais, auxiliando na implementação de medidas de conservação e restauração (Arias, 2007).

Estudos recentes demonstram a eficácia do biomonitoramento na detecção de impactos ambientais nesta região. A análise de macroinvertebrados bentônicos em rios e lagoas revelou uma correlação entre a presença de pesticidas e a diminuição da diversidade biológica. Além disso, a bioacumulação de mercúrio em peixes foi associada à mineração e ao uso de pesticidas na agricultura (Pereira De Oliveira et al., 2022; Peris et al., 2022).

Já o cerrado brasileiro, que é considerado um dos biomas mais ricos em biodiversidades, é considerado também um dos mais ameaçados pela expansão agrícola e uso intensivo de agrotóxicos. Estudos realizados utilizando testes genotóxicos avaliaram a qualidade ambiental do cerrado, demonstrando que, o uso de herbicidas como glifosato apresenta alto grau de toxicidade para o meio ambiente desta região, sua contaminação pode apresentar forte ameaça para as populações de peixes e outros organismos tanto vertebrados como invertebrados e saúde do homem (de Souza & Oliveira, 2024)

Quando se fala no bioma Amazônia, referimo-nos diretamente à maior floresta tropical do mundo, com sua área brasileira de aproximadamente 4.196.943 milhões de km² (IBGE, 2002) portando uma vasta biodiversidade e recursos naturais, esta região enfrenta desafios sérios como desmatamento e mineração. A utilização de ensaios genotóxicos são empregados para monitorar a contaminação por metais pesados, especialmente mercúrio, que é amplamente utilizado na mineração de ouro. Esse monitoramento é vital para proteger não apenas a vida aquática, mas também as comunidades humanas que dependem desses recursos (Leite et al., 2023).

O biomonitoramento ambiental é uma ferramenta crucial para a conservação deste ecossistema único. Através da análise de bioindicadores, bioacumulação e biomarcadores, é possível detectar e mitigar os impactos das atividades humanas, promovendo a sustentabilidade e a preservação da biodiversidade.

3.5.1 Testes de genotoxicidade em insetos

O uso de biomarcadores, que são características biológicas mensuráveis que ajudam a prever qualquer alteração bioquímica precoce e a utilização de bioindicadores que são seres vivos de natureza diversa, utilizados para avaliar a qualidade ambiental, como métodos para detecção de exposição e avaliação de efeitos genotóxicos vem aumentando cada vez mais, proporcionando resultados importantes para avanços e melhorias na ecotoxicologia (Magalhães & Ferrão Filho, 2008). Em particular, os insetos têm se mostrado modelos valiosos para esses estudos devido à sua diversidade, facilidade de criação e sensibilidade aos agentes genotóxicos, que são aqueles que interagem com o DNA produzindo alterações em sua estrutura ou função e quando essas alterações se fixam de forma capaz de serem transmitidas, denominam-se mutações se tornando organismos fundamentais para a

pesquisa nesta área, principalmente para biomonitoramento ambiental (Shetty et al., 2025).

Os insetos são modelos populares devido à sua resposta rápida e bem caracterizada a agentes tóxicos. Entre os mais utilizados estão: *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca-das-frutas é amplamente usada devido à sua genética bem compreendida e ciclo de vida curto (Graf & Mandler, 1984). Outro inseto amplamente utilizado é a abelha do gênero *Apis mellifera* que se refere como um bioindicador importante de qualidade ambiental. Estudos em abelhas frequentemente utilizam testes de micronúcleos e ensaio do cometa para avaliar danos no DNA e cromossômicos causados por agrotóxicos e outros poluentes (Bacandritsos et al., 2010).

A genotoxicidade está relacionada ao potencial de uma substância causar danos ao DNA, resultando em mutações, câncer e outras doenças genéticas. Testar a genotoxicidade é crucial para identificar riscos associados a novos compostos químicos, como agrotóxicos, fármacos e contaminantes ambientais (Sharma et al., 2012)

Os testes de genotoxicidade em insetos têm uma ampla gama de aplicações, desde a avaliação de novos agrotóxicos até o monitoramento de poluentes ambientais (Sharma et al., 2012). Estudos recentes destacam a sensibilidade dos insetos a diferentes tipos de genotóxicos, sendo que vários estudos demonstraram que pesticidas neonicotinoides e organofosforados causam danos genotóxicos significativos em insetos, especialmente em abelhas, afetando sua saúde e capacidade de polinização (Boily et al., 2013).

Um instrumento importante na ecotoxicologia são os biotestes ou bioensaios, que consistem em propiciar informações importantes sobre os efeitos de produtos químicos e biológicos (Häder et al., 2009). O ensaio do cometa é um dos biomarcadores de genotoxicidade mais utilizado em estudos de biomonitoramento ambiental nos últimos anos (Møller, 2006), o teste consiste na detecção da indução de lesões no DNA, uma vez que tais danos podem possibilitar o aparecimento de aberrações cromossômicas, colocando em risco o sucesso reprodutivo dos organismos e, conseqüentemente, uma perda de biodiversidade, a qual é um dos parâmetros mais relevantes na ecotoxicologia (Jha, 2008).

Desta maneira, como os compostos tóxicos podem se acumular nos tecidos e órgãos dos insetos, estes organismos são de grande interesse em bioensaios ecotoxicológicos, podendo ser utilizados como bioindicadores da qualidade ambiental (Abdalla; Domingues, 2015; Skaldina; Sorvari, 2017).

3.5.2 O uso do ensaio do cometa para avaliação de danos ao DNA

O ensaio do cometa (EC), também conhecido como ensaio de eletroforese em gel de célula única (SCGE, do inglês *Single Cell Gel Electrophoresis*), é uma técnica sensível e eficaz para detectar danos no DNA de células individuais (Kammann et al., 2004). Este teste é muito utilizado como uma ferramenta básica em muitas áreas de pesquisa, incluindo biomonitoramento ambiental (GOTIJO, 2003).

O EC é um método muito difundido e eficaz, que pode detectar sinais de genotoxicidade por meio da identificação da quebra da fita de DNA de células expostas a agentes químicos, físicos e biológicos (Oliveira, 2013)). Estudos comprovaram a eficiência deste teste em vários grupos celulares utilizando diferentes agentes (Lee & Steinert, 2003; Matsumoto et al., 2006). Ao ser comparado com outros testes, o EC apresenta vantagens como a detecção de dano no material genético, exigência de poucas células para a sua realização e a possibilidade de se obter dados de células individualizadas (Bücker et al., 2006)

O ensaio baseia-se na eletroforese em gel, onde células isoladas são embebidas em um gel de agarose sobre uma lâmina de vidro e submetidas a lise para remover as membranas celulares e nucleares, deixando os núcleos e seu conteúdo de DNA intactos. Em seguida, a lâmina é exposta a um campo elétrico, fazendo com que fragmentos de DNA migrem para longe do núcleo. A extensão da migração é visualizada e analisada sob um microscópio de fluorescência, formando uma imagem que se assemelha a um cometa, com uma "cabeça" (DNA intacto) e uma "cauda" (fragmentos de DNA) (Santos, 2022).

O tamanho da cauda é proporcional à dimensão do dano que foi causado, mas a simples visualização do "cometa" já significa que danos estão presentes no DNA, podendo indicar quebras de fita simples, duplas, Cross links, sítios de reparo por excisão e/ou lesões álcali-lábeis (Tice et al., 1995)).

Estudos recentes demonstrar a relevância do ensaio do cometa no biomonitoramento ambiental. Lechinovski, (2023), utilizaram o ensaio do cometa para

avaliar a genotoxicidade em peixes expostos a efluentes industriais, encontrando correlações significativas entre a poluição da água e os danos no DNA dos organismos testados. Além disso, Kumaravel et al., (2021), revisaram a aplicação do ensaio em diferentes contextos ambientais, reforçando sua utilidade na detecção de poluentes emergentes e compostos farmacêuticos em ambientes aquáticos.

Um estudo realizado por Badiou-Bénéteau et al., (2012) analisou abelhas intoxicadas experimentalmente a pesticidas neonicotinoides e detectou um aumento significativo nos danos ao DNA, mensurado pelo ensaio do cometa. Os resultados obtidos, sugeriram que a exposição a esses pesticidas não apenas afeta a sobrevivência das abelhas, mas também causa danos genéticos que podem ter efeitos de longo prazo na população. Já Antunes et al., (2023), analisou abelhas expostas a uma mistura de pesticidas comumente usados em culturas agrícolas. O resultado do ensaio mostrou que, mesmo em concentrações subletais, esses químicos causaram danos significativos ao DNA, indicando que a exposição crônica pode ser altamente prejudicial. Os autores demonstraram a importância de considerar não apenas a toxicidade aguda, mas também os efeitos subletais e crônicos dos agrotóxicos.

O ensaio do cometa é uma ferramenta valiosa e eficaz para o biomonitoramento da qualidade ambiental. Sua capacidade de detectar danos no DNA com alta sensibilidade e em uma ampla gama de organismos o torna essencial para a avaliação de riscos ambientais e a implementação de estratégias de mitigação (Jha, 2008) À medida que os desafios ambientais continuam a crescer, o ensaio do cometa desempenhará um papel crucial na proteção da saúde humana e ecológica.

4 TESTES DE ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo refere-se a um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são radicais livres e a capacidade do sistema antioxidante do organismo em neutralizá-las. Este evento está associado a uma variedade de condições patológicas, como doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer (Sies, 1991)

Diversos estudos demonstram o grande interesse por biomarcadores enzimáticos como forma de monitoramento ambiental (Bainy et al., 1996; Bocchetti et

al., 2008; Nicholson & Lam, 2005; Zanette et al., 2005). A sua utilização deve-se ao fato dos compostos tóxicos, que apresentam uma meia-vida relativamente longa, possuírem alta afinidade por pares de elétrons encontrados nos aminoácidos que formam as enzimas (Bertin & Averbeck, 2006; Ivanina et al., 2008).

O estresse oxidativo refere-se a uma condição em que a produção de espécies reativas de oxigênio extrapola a capacidade antioxidante de defesa de um organismo. Essa condição pode levar a danos celulares, incluindo peroxidação lipídica, dano ao DNA e distúrbio proteico. Em condições normais, há um equilíbrio entre a produção dessas moléculas e sua neutralização por antioxidantes endógenos. No entanto, a exposição a poluentes ambientais, como metais pesados, agrotóxicos e outros xenobióticos, pode aumentar a produção de EROs, superando a capacidade antioxidante do organismo e levando ao estresse oxidativo (Betteridge, 2000).

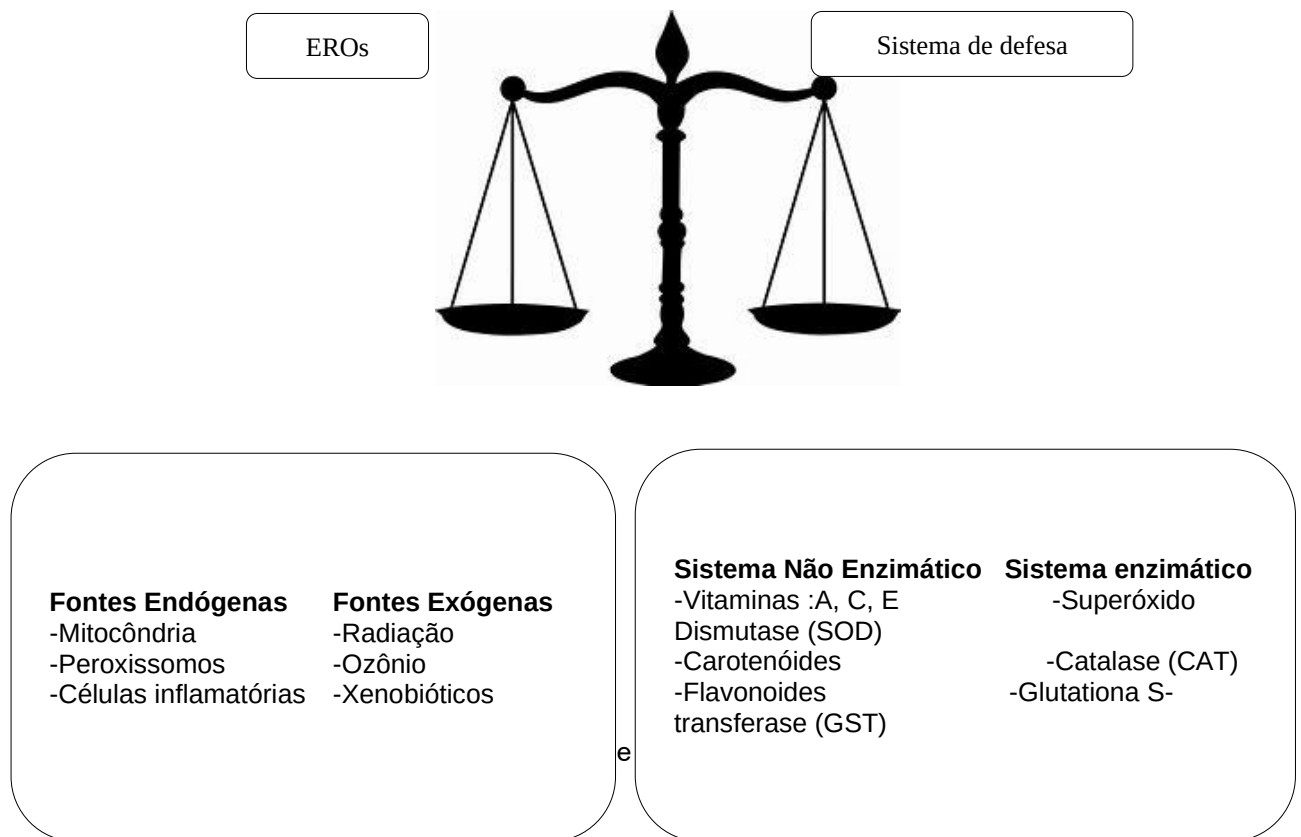


Figura 3 Equilíbrio entre a produção de espécies reativas do metabolismo do oxigênio (EROs) e sistema antioxidante.

Diversos métodos são utilizados para avaliar o estresse oxidativo em organismos expostos a poluentes ambientais. Alguns dos principais testes incluem: Enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) desempenham papéis cruciais na defesa contra EROs. A atividade dessas enzimas pode ser medida para avaliar a resposta antioxidante de um organismo ao estresse oxidativo (Łopieńska-Biernat et al., 2017). O estresse oxidativo é um indicador precoce da presença de poluentes tóxicos. Organismos expostos a substâncias nocivas frequentemente apresentam aumento na produção de EROs e danos oxidativos, sinalizando a contaminação ambiental (Lushchak, 2011).

Estudos recentes continuam destacando a importância dos testes de estresse oxidativo no monitoramento ambiental. Martins et al., (2021), demonstraram que peixes expostos a resíduos de mineração apresentaram aumento significativo na atividade de enzimas antioxidantes e nos níveis de MDA, indicando estresse oxidativo severo. Outro estudo realizado por Ferreira, (2023) utilizou biomarcadores de estresse oxidativo em esponjas marinhas para avaliar a contaminação por microplásticos, revelando impactos prejudiciais na fisiologia dos organismos testados.

Para avaliar a qualidade ambiental e os impactos de poluentes, os testes de estresse oxidativo são ferramentas indispensáveis. Ao medir danos oxidativos em organismos bioindicadores, esses testes fornecem uma visão valiosa sobre a saúde dos ecossistemas e os riscos associados à contaminação ambiental. Segundo Halliwell e Gutteridge (2015), o aumento da poluição global, o uso de testes de estresse oxidativo continuará a ser fundamental para a proteção ambiental e a saúde pública.

4.1 SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD)

A enzima superóxido dismutase (SOD – EC 1.15.1.1), é a principal defesa contra os possíveis danos causados pelo radical livre superóxido (O_2^-), podendo ser encontrada em todos os compartimentos celulares susceptíveis ao estresse oxidativo. A SOD é classificada, de acordo com o seu metal cofator, em quatro isoformas: manganês (MnSOD), ferro (FeSOD), cobre/zinco (Cu/ZnSOD) e o tipo níquel (NiSOD) (Fridovich, 1997).

Estas enzimas são eficazes na remoção catalítica de O_2^- , convertendo em produto, oxigênio e H_2O_2 que são menos prejudiciais. A atividade da SOD é importante

para manter o equilíbrio dentro das células e assim, prevenir danos oxidativos que podem levar a diversas doenças, incluindo câncer, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares. Além disso, a SOD tem sido estudada por seu papel protetor em condições de estresse ambiental, como exposição a metais pesados e poluentes, que podem aumentar a produção de EROs e sobrecarregar os sistemas de defesa antioxidante do organismo (Harrison et al., 2005)

Em condições de estresse ambiental, como exposição a agrotóxicos, metais pesados ou poluição atmosférica, a atividade da SOD pode ser alterada em bioindicadores como abelhas, anfíbios, mamíferos e insetos demonstrando a presença e o impacto de poluentes no ambiente (Silveira et al., 2021)

A utilização de abelhas na mensuração da SOD contribui para a compreensão do impacto de poluentes no ambiente e auxilia na avaliação da segurança alimentar e da qualidade do ecossistema. Estudo conduzido por (Silveira et al., 2021) aponta que a variação na atividade da SOD em insetos pode refletir a exposição a poluentes, proporcionando uma medida precoce e eficaz da saúde ambiental.

Já, Moreira, (2020), corroboraram que a atividade da SOD em anfíbios pode ser usada para avaliar a qualidade da água e a presença de contaminantes, contribuindo para a conservação dessas espécies sensíveis e dos ecossistemas aquáticos. O uso de diferentes grupos de organismos no biomonitoramento ambiental, com a SOD como biomarcador, oferece uma abordagem abrangente para a detecção de poluentes e a avaliação da saúde ecológica.

4.2 CATALASE

Responsável por oxidar substratos orgânicos, a catalase (CAT– EC 1.11.1.6) é particularmente eficaz nas células dos organismos vivos, atuando na degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Na presença de altas concentrações de peróxido de hidrogênio, a catalase atua, convertendo-o em água e oxigênio, como ilustrado na fórmula: $2 H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2 H_2O + O_2$ (Barreiros et al., 2006b)

A atividade da catalase é um fator importante para o monitoramento, por ser uma enzima que apresenta uma alta atividade quando o organismo se encontra em estresse oxidativo (Avilez et al., 2008). Além disso, a atividade da catalase é essencial em condições de estresse ambiental e exposição a poluentes, ajudando a mitigar os

efeitos deletérios de altos níveis de peróxido de hidrogênio gerados nessas situações (Bainy et al., 1996; Zanette et al., 2005).

No contexto do biomonitoramento ambiental, a atividade da enzima catalase em diferentes organismos vivos, incluindo insetos, anfíbios, mamíferos e abelhas, oferece uma importante ferramenta para a avaliação de poluentes e estressores ambientais. Soares De Lima, (2022) ao realizarem um estudo utilizando *Tenebrio molitor*, também conhecido como besouro-do-amendoim, mostraram que a variação na atividade da catalase pode ser utilizada como um biomarcador de estresse oxidativo, indicando a qualidade do ambiente e a presença de contaminantes.

Santos et al. (2013), em um outro estudo, mensurou a catalase nos tecidos de anfíbios demonstrando que esta espécie é um bom indicador de exposição a poluentes aquáticos, como pesticidas e contaminantes industriais. Já Rodrigues et al. (2020), indicaram que a variação na atividade da catalase em abelhas pode ser usada para monitorar a saúde ambiental e a segurança alimentar, dado o papel essencial das abelhas na polinização.

O uso de diferentes grupos de organismos no biomonitoramento ambiental auxilia para a conservação da biodiversidade e para a formulação de políticas ambientais e de saúde pública eficazes, que visam proteger tanto os ecossistemas quanto as populações humanas.

5 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM ABELHAS EXPOSTAS A AGROTÓXICOS

As alterações histológicas em tecidos são consideradas como biomarcadores de efeito à exposição de estressores do meio ambiente, sendo reconhecidas como um meio para avaliação do campo de poluentes ambientais (Teh et al., 1997).

Essas alterações podem auxiliar como indicadores de exposição a agentes estressores. Estudos utilizando ensaios ambientais para classificar impacto ambiental mostraram que, mudanças histopatológicas estão intimamente associadas a impactos ambientais (da Costa Domingues et al., 2020)

Alterações patológicas refletem distúrbios a nível morfofisiológico dentro de algumas células, a identificação destas desordens moleculares é o ponto principal para o desenvolvimento de biomarcadores diagnósticos para uso em avaliações de impacto ambiental (Castro et al., 2020b; Carneiro et al., 2020a).

Os biomarcadores histológicos evidenciam um poderoso instrumento para detectar e caracterizar o ponto final biológico de componentes tóxicos e exposição a carcinogênico. Deste modo, os meios para identificar mudanças adversas induzidas por substâncias tóxicas deveriam inicialmente focar em órgãos como o intestino, o fígado e o rim, uma vez que têm a função de absorver, metabolizar e eliminar substâncias tóxicas (Moore & Simpson, 1992).

O intestino dos insetos é dividido em três regiões: intestino anterior (ingestão e armazenamento de alimentos), intestino médio (digestão e absorção de nutrientes) e intestino posterior (reabsorção e excreção) (da Costa Domingues et al., 2020; da cruz-landim & Rodrigues, 1967). Devido suas funções relevantes, este órgão é amplamente utilizado em estudos ecotoxicológicos em abelhas que foram expostas oralmente a agrotóxicos (Castro et al., 2020b; Carneiro et al., 2020b; Ceschi-Bertoli et al., 2020)

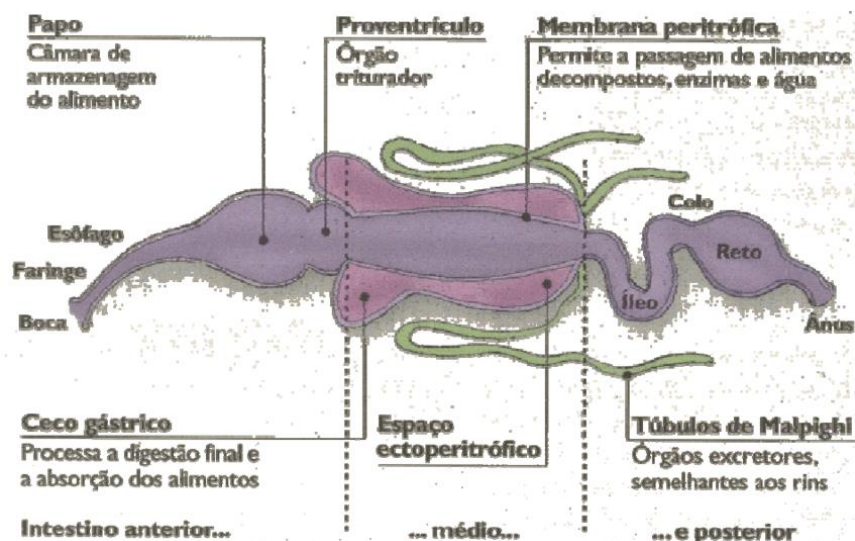


Figura 4 Intestino dos insetos e suas divisões

Fonte: Xavier et al., 2002

Resíduos de pesticidas nos alimentos ingeridos podem ser absorvidas no intestino médio. Nele são encontrados três tipos de células: células digestivas, responsáveis pela digestão, absorção e síntese dos componentes da membrana peritrófica; células regenerativas, organizadas na base do epitélio intestinal, responsáveis pela renovação e células endócrinas, que são responsáveis pela produção de hormônios (Castro et al., 2020a; Caccia et al., 2019; da Costa Domingues et al., 2020)

Neste cenário do monitoramento ambiental, a análise histopatológica em abelhas pode evidenciar os impactos de contaminantes específicos e fornecer informações sobre a saúde das colônias e do ambiente em que vivem. Estudos têm realçado que pesticidas, como neonicotinoides, podem causar danos importantes nos tecidos das abelhas, incluindo alterações nas células nervosas e nos sistemas endócrino e digestivo (Zaluski et al., 2015). Além disso, metais pesados presentes no pólen e no néctar coletados pelas abelhas podem levar a alterações histopatológicas no intestino médio e nas glândulas hipofaríngeas (Zhu et al., 2014).

Esses estudos ajudam a proteger não apenas as abelhas e outros polinizadores, mas também a saúde dos ecossistemas e a sustentabilidade agrícola.

6 OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos genotóxicos e de estresse oxidativo do glifosato em abelhas *Apis mellifera* por meio de análises de quebras no DNA (ensaio do cometa), atividade enzimática (superóxido dismutase e catalase) e histopatologia dos intestinos, contribuindo para o entendimento dos impactos desse herbicida na saúde das abelhas.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Determinar a genotoxicidade do glifosato por meio do ensaio do cometa, avaliando a porcentagem de DNA fragmentado na cauda do cometa em abelhas expostas a diferentes concentrações do herbicida.
- II. Avaliar a atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD) e catalase em abelhas expostas ao glifosato, verificando se há alteração nos níveis dessas enzimas antioxidantes em função da concentração e do tempo de exposição.
- III. Investigar alterações histopatológicas no tecido intestinal das abelhas expostas ao glifosato, identificando danos estruturais e celulares relacionados à exposição ao herbicida.
- IV. Analisar a relação dose-dependente entre as concentrações de glifosato e os danos observados, verificando se as concentrações mais elevadas resultam em efeitos mais pronunciados nos parâmetros analisados (genotoxicidade, estresse oxidativo e histopatologia)
- V. Contribuir para o entendimento dos impactos ecológicos e econômicos da exposição ao glifosato, fornecendo subsídios científicos para políticas públicas de uso de agrotóxicos, com foco na preservação das abelhas e na manutenção dos serviços de polinização.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abdalla, F. C., & Da Costa Domingues, C. E. (2015). Hepato-nephrotoxic system: A novel model of biomarkers for analysis of the ecology of stress in environmental biomonitoring. *PLoS ONE*, 10(7), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132349>
- Alaux, C., Brunet, J., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Brillard, J., Baldy, A., Belzunces, L. P., & Le Conte, Y. (2010). Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*, 12(3), 774–782. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x>
- Amarante Junior, O. P. de, Santos, T. C. R. dos, Brito, N. M., & Ribeiro, M. L. (2002). Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, 25(4), 589–593. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>
- Antunes, B. C., Ribeiro, L. G., Roque, A. M., Ferreira, K. M., Winkler, E. U., & Lhano, M. G. (2023). O herbicida glifosato pode interferir nas interações sociais de abelhas *Apis mellifera* operárias? *Research, Society and Development*, 12(6), e29412642439. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i6.42439>
- Arias, A. R. L. B. D. F. de A. C. I. A. F. F. M. M. ; E. M. ; Mugnai. R. B. D. F. (2007). Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers. *CIÊNCIA E SAÚDE COLETIVA*, 12, 61–72.
- Arthidoro de Castro, M. B., Martinez, L. C., Cossolin, J. F. S., Serra, R. S., & Serrão, J. E. (2020a). Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda-cyhalothrin. *Chemosphere*, 248. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126075>
- Arthidoro de Castro, M. B., Martinez, L. C., Cossolin, J. F. S., Serra, R. S., & Serrão, J. E. (2020b). Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda-cyhalothrin. *Chemosphere*, 248, 126075. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126075>
- Assumpção, L. D. (2018). Habitat e biologia reprodutiva de *Steindachneridion melanoderma* Garavito, 2005, espécie endêmica do Rio Iguaçu..
- Avilez, I. M., Hori, T. S. F., de Almeida, L. C., Hackbarth, A., Neto, J. da C. B., Bastos, V. L. F. da C., & Moraes, G. (2008). Effects of phenol in antioxidant metabolism in matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(2), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.008>
- Azevedo, P., Cornélio, R., Nocelli, F., Diagramado, T., Dos, K., & Toledo, S. (2020). Revisão da anatomia do sistema nervoso central de *Apis mellifera*: uma base teórica para estudos ecotoxicológicos Review of *Apis mellifera*

- central nervous system anatomy: a theoretical basis for ecotoxicological studies. *Revista da Biologia*, 1, 10–20. <https://doi.org/10.7594/revbio.20.01.10>
- Bacandritsos, N., Granato, A., Budge, G., Papanastasiou, I., Roinioti, E., Caldon, M., Falcaro, C., Gallina, A., & Mutinelli, F. (2010). Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 105(3), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.08.004>
- Badiou-Bénéteau, A., Carvalho, S. M., Brunet, J. L., Carvalho, G. A., Buleté, A., Giroud, B., & Belzunces, L. P. (2012). Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 82, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.05.005>
- Bainy, A. C. D., Saitob, E., Carvalho, P. S. M., & Junqueira, V. B. C. (1996). Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicology*, 34, 151–162.
- Balbuena, M. S., Tison, L., Hahn, M. L., Greggers, U., Menzel, R., & Farina, W. M. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology*, 218(17), 2799–2805. <https://doi.org/10.1242/jeb.117291>
- Barbosa, R. N., Bezerra, J. D. P., Souza-Motta, C. M., Frisvad, J. C., Samson, R. A., Oliveira, N. T., & Houbraken, J. (2018). New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(10), 1883–1912. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1081-1>
- Bargańska, Ż., Ślebioda, M., & Namieśnik, J. (2016). Honey bees and their products: Bioindicators of environmental contamination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(3), 235–248. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1078220>
- Barreiros, A. L., David, J. M., & David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química nova*, 29, 113–123.
- Battisti, L., Potrich, M., Sampaio, A. R., de Castilhos Ghisi, N., Costa-Maia, F. M., Abati, R., dos Reis Martinez, C. B., & Sofia, S. H. (2021). Is glyphosate toxic to bees? A meta-analytical review. *Science of the Total Environment*, 767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145397>
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
- Beringer, J. S., & Maciel, F. L. T. F. F. (2019). O declínio populacional das abelhas: causas, potenciais soluções e perspectivas futuras. *Rev. Elet. Cient. Da UERGS*, 1, 19. <https://doi.org/10.21674/2448-0479.51.17-26>
- Bertin, G., & Averbeck, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences

- 1014 (a review). *Biochimie*, 88(11), 1549–1559.
1015 <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.10.001>
- 1016 Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3–8.
1017 [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- 1018 Bocchetti, R., Fattorini, D., Pisanelli, B., Macchia, S., Oliviero, L., Pilato, F.,
1019 Pellegrini, D., & Regoli, F. (2008). Contaminant accumulation and biomarker
1020 responses in caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to evaluate
1021 bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during
1022 dredging and disposal operations in harbour areas. *Aquatic Toxicology*, 89(4),
1023 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.011>
- 1024 Boily, M., Sarrasin, B., DeBlois, C., Aras, P., & Chagnon, M. (2013).
1025 Acetylcholinesterase in honey bees (*Apis mellifera*) exposed to
1026 neonicotinoids, atrazine and glyphosate: Laboratory and field experiments.
1027 *Environmental Science and Pollution Research*, 20(8), 5603–5614.
1028 <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1568-2>
- 1029 Botías, C., David, A., Hill, E. M., & Goulson, D. (2016). Contamination of wild
1030 plants near neonicotinoid seed-treated crops, and implications for non-target
1031 insects. *Science of the Total Environment*, 566–567, 269–278.
1032 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.065>
- 1033 Brandi Simonsen, Sarah Fairbanks, Amy Briesch, Diane Myers, & George Sugai.
1034 (2008). Evidence-based Practices in Classroom Management:
1035 Considerations for Research to Practice. *Education and Treatment of*
1036 *Children*, 31(1), 351–380. <https://doi.org/10.1353/etc.0.0007>
- 1037 BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA.
1038 (2020). Instrução normativa - in nº 75. *DOU No195, de 9 de Outubro de 2020*.
- 1039 Brittain, C., & Potts, S. G. (2011). The potential impacts of insecticides on the life-
1040 history traits of bees and the consequences for pollination. In *Basic and*
1041 *Applied Ecology* (Vol. 12, Issue 4, pp. 321–331).
1042 <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.12.004>
- 1043 Brown, C., Kovacs, E. K., Zinngrebe, Y., Albizua, A., Galanaki, A.,
1044 Grammatikopoulou, I., Herzon, I., Marquardt, D., Mccracken, D., Olsson, J.,
1045 & Villamayor-Tomas, S. (2020). *Understanding farmer uptake of measures*
1046 *that support biodiversity and ecosystem services in the Common Agricultural*
1047 *Policy (CAP) An EKLIPSE Expert Working Group report*. eklipse-
1048 understanding farmer uptake of biodiversity measures in the cap.
- 1049 Brown, M. J. F., & Paxton, R. J. (2009). The conservation of bees: a global
1050 perspective. *Apidologie*, 40(3), 410–416.
1051 <https://doi.org/10.1051/apido/2009019>
- 1052 Bücker, A., Carvalho, W., & Alves-Gomes, A. (2006). Avaliação da mutagênese e
1053 genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes)
1054 expostos ao benzeno. *Acta Amazonica*, 36(3), 357–364.
- 1055 Caccia, S., Casartelli, M., & Tettamanti, G. (2019). The amazing complexity of
1056 insect midgut cells: types, peculiarities, and functions. In *Cell and Tissue*
1057 *Research* (Vol. 377, Issue 3, pp. 505–525). Springer Verlag.
1058 <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03076-w>

- Carneiro, L. S., Martínez, L. C., Gonçalves, W. G., Santana, L. M., & Serrão, J. E. (2020a). The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis mellifera* workers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 109991. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109991>
- Carneiro, L. S., Martínez, L. C., Gonçalves, W. G., Santana, L. M., & Serrão, J. E. (2020b). The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis mellifera* workers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 109991. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109991>
- Castilho, M. D. O. (2023). Ecotoxicidade do glifosato em abelhas *scaptotrigona postica*: estudo da concentração letal e subletal sobre biomarcadores de oxidação.
- Cattani, D., de Liz Oliveira Cavalli, V. L., Heinz Rieg, C. E., Domingues, J. T., Dalcim, T., Tasca, C. I., Mena Barreto Silva, F. R., & Zamoner, A. (2014). Mechanisms underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: Involvement of glutamate excitotoxicity. *Toxicology*, 320(1), 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.03.001>
- Cavalcanto Neto, H.C; TROVÃO, L.C.S; BRITO, C. R. GODOY, A. M. (2025). The right to a healthy environment at risk: use of pesticides in brazilian crops, high productivity and bee extermination. *REVISTA ARACÊ*, 1. <https://doi.org/https://doi.org/10.56238/arev7n1-216>
- Celli, G., & Maccagnani, B. (2003). Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 137–139.
- Ceschi-Bertoli, L., Vidal, F. A. P., Balsamo, P. J., & Abdalla, F. C. (2020). Comet assay protocol for *Bombus atratus* fat body and pericardial cells (Hymenoptera, bombini) at a safe concentration of mercury. *Chemosphere*, 261. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127752>
- Cléssia Vieira Belchior, D., de Souza Saraiva, A., Maria Córdova López, A., & Newton Scheidt, G. (2017). *Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana* (Issue 1).
- Cox, C. (1995). Glyphosate Fact Sheets: Part 1 and Part 2 Glyphosate, Part 1: Toxicology. In *Journal of Pesticide Reform* (Vol. 15, Issue 3).
- da Costa Domingues, C. E., Bello Inoue, L. V., da Silva-Zacarin, E. C. M., & Malaspina, O. (2020). Fungicide pyraclostrobin affects midgut morphophysiology and reduces survival of Brazilian native stingless bee *Melipona scutellaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111395>
- da cruz-landim, C., & Rodrigues, L. (1967). Comparative anatomy and histology of the alimentary canal of adult apinae. *Journal of Apicultural Research*, 6(1), 17–28. <https://doi.org/10.1080/00218839.1967.11100156>
- da Silva, H. p. , de O. R. C. , V. P. C. e F. I. M. (2020). *CIÊNCIAS AMBIENTAIS* (Sarginha. D. S. Zaitune. P. A. Hayashi. C, Ed.; 1st ed.).
- Daily, G. C. ., & Ellison, Katherine. (2002). *The new economy of nature : the quest to make conservation profitable*. Island Press : Shearwater Books.

- 1103 Davoren, M. J., & Schiestl, R. H. (2018). Glyphosate-based herbicides and cancer
1104 risk: a post-IARC decision review of potential mechanisms, policy and
1105 avenues of research. *Carcinogenesis*, 39(10), 1207–1215.
1106 <https://doi.org/10.1093/carcin/bgy105>
- 1107 de Azevedo Costa, C. C., & de Oliveira, F. L. (2013). Polinização: serviços
1108 ecossistêmicos e o seu uso na agricultura. *Revista Verde de Agroecologia e*
1109 *Desenvolvimento Sustentável*, 8(3), 1.
- 1110 de MORAES, R. F. (2019). *Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da*
1111 *regulação e prevenção da captura regulatória* (No. 2506). Texto para
1112 Discussão. www.ipea.gov.br
- 1113 de Paiva Magalhaes, D., & Ferrao-Filho, A. (2008). A ecotoxicologia como
1114 ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecologia*
1115 *brasiliensis*, 12(3), .. In *Oecol. Bras* (Vol. 12, Issue 3).
- 1116 de Souza, A. P. F., Rodrigues, N. R., & Reyes, F. G. R. (2021). Glyphosate and
1117 aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in Brazilian honey. *Food*
1118 *Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 14(1), 40–47.
1119 <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1855676>
- 1120 de Souza, I. M. L., & Oliveira, R. D. (2024). The process of alienation of
1121 communication in consumer society: a look at the consequences for the
1122 environment. *ARACÊ*, 6(3). <https://doi.org/10.56238/arev6n3-096>
- 1123 Derecka, K., Blythe, M. J., Malla, S., Genereux, D. P., Guffanti, A., Pavan, P.,
1124 Moles, A., Snart, C., Ryder, T., Ortori, C. A., Barrett, D. A., Schuster, E., &
1125 Stöger, R. (2013). Transient Exposure to Low Levels of Insecticide Affects
1126 Metabolic Networks of Honeybee Larvae. *PLoS ONE*, 8(7).
1127 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068191>
- 1128 Dicks, K. L., Ball, A. D., Banfield, L., Barrios, V., Boufaroua, M., Chetoui, A.,
1129 Chuven, J., Craig, M., Faqeer, M. Y. Al, Garba, H. H. M., Guedara, H.,
1130 Harouna, A., Ivy, J., Najjar, C., Petretto, M., Pusey, R., Rabeil, T., Riordan,
1131 P., Senn, H. V., ... Gilbert, T. (2023). Genetic diversity in global populations
1132 of the critically endangered addax (*Addax nasomaculatus*) and its
1133 implications for conservation. *Evolutionary Applications*, 16(1), 111–125.
1134 <https://doi.org/10.1111/eva.13515>
- 1135 Duke, S. O., & Powles, S. B. (2008). Glyphosate: A once-in-a-century herbicide.
1136 *Pest Management Science*, 64(4), 319–325. <https://doi.org/10.1002/ps.1518>
- 1137 Ferreira da Silva Neto, I., Silva Duarte, M. B., Dias Fernandes Canuto, M. A., &
1138 Moreira Aguiar, A. (2021). Uma breve revisão sobre a utilização de abelhas
1139 como bioindicadores de contaminação ambiental: Ênfase na *Apis mellifera* L.
1140 *Revista Semiárido De Visu*, 9(3), 204–210.
1141 <https://doi.org/10.31416/rsdv.v9i3.12>
- 1142 Ferreira, H. C. (2023). *Caracterização de microplásticos em águas da Bacia de*
1143 *Santos e da Baía da Ilha Grande e em esponjas marinhas da espécie*
1144 *Drumacidon reticulatum* (Ridley & Dendy, 1886).
- 1145 Foguel, I. (2019). *O mundo das abelhas* (Clube de autores).

- Freitas, B. M., Imperatriz-Fonseca, V. L., Medina, L. M., Kleinert, A. D. M. P., Galetto, L., Nates-Parra, G., & Javier, J. (2009). Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. In *Apidologie* (Vol. 40, Issue 3, pp. 332–346). <https://doi.org/10.1051/apido/2009012>
- Fridovich, I. (1997). Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), superoxide dismutases, and related matters. In *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 272, Issue 30, pp. 18515–18517). <https://doi.org/10.1074/jbc.272.30.18515>
- Gaboardi, S. C., Candioto, L. Z. P., & Panis, C. (2023). Agribusiness in Brazil and its dependence on the use of pesticides. In *Hygiene and Environmental Health Advances* (Vol. 8). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.heha.2023.100080>
- GARCIA. E.G; Bussacos.M.A; FischeR. F.M. (2005). Impacto da legislação no registro de agrotóxicos de maior toxicidade no Brasil Impact of legislation on registration of acutely toxic pesticides in Brazil. *REV SAÚDE PÚBLICA*, 5, 832.
- Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R., Cunningham, S. A., Kremen, C., Carvalheiro, L. G., Harder, L. D., Afik, O., Bartomeus, I., Benjamin, F., Boreux, V., Cariveau, D., Chacoff, N. P., Dudenhöffer, J. H., Freitas, B. M., Ghazoul, J., Greenleaf, S., ... Klein, A. M. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*, 340(6127), 1608–1611. <https://doi.org/10.1126/science.1230200>
- Giannini, T. C., Boff, S., Cordeiro, G. D., Cartolano, E. A., Veiga, A. K., Imperatriz-Fonseca, V. L., & Saraiva, A. M. (2015). Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie*, 46(2), 209–223. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0316-z>
- Giesy, J. P., Dobson, S., & Solomon, K. R. (2000). *Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup® Herbicide*.
- Gontijo, A. M. M. C., & Tice, R. (2003). Teste do cometa para a detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas. *Mutagênese ambiental. Canoas: Ulbra*, 173-200..
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. In *Science* (Vol. 347, Issue 6229). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Graf, P., & Mandler, G. (1984). Activation Makes Words More Accessible, but Not Necessarily More Retrievable. In *Journal of verbal learning and verbal behavior* (Vol. 23).
- Gregorc, A., & Sampson, B. (2019). Diagnosis of Varroa Mite (*Varroa destructor*) and Sustainable Control in Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies—A Review. *Diversity*, 11(12), 243. <https://doi.org/10.3390/d11120243>
- Häder, D.-P., Richter, P. R., Schuster, M., Daiker, V., & Lebert, M. (2009). Molecular analysis of the graviperception signal transduction in the flagellate *Euglena gracilis*: Involvement of a transient receptor potential-like channel

- and a calmodulin. *Advances in Space Research*, 43(8), 1179–1184.
<https://doi.org/10.1016/j.asr.2009.01.029>
- Harrison, J., Megin, B., Sarah, C.-L., Fiarman, E., Jones, A., Kalejs, E., Susan, Q., & Johnson, M. (2005). *Cracking the Mold: How Second-Stage Teachers Experience their Differentiated Roles*.
- Heap, I. (2014). Global perspective of herbicide-resistant weeds. *Pest Management Science*, 70(9), 1306–1315. <https://doi.org/10.1002/ps.3696>
- Helmer, S. H., Kerbaol, A., Aras, P., Jumarie, C., & Boily, M. (2015). Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8010–8021. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2879-7>
- Herbert, L. T., Vázquez, D. E., Arenas, A., & Farina, W. M. (2014). Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *Journal of Experimental Biology*, 217(19), 3457–3464. <https://doi.org/10.1242/jeb.109520>
- Hofmann, M. M., Fleischmann, A., & Renner, S. S. (2020). Foraging distances in six species of solitary bees with body lengths of 6 to 15 mm, inferred from individual tagging, suggest 150 m-rule-of-thumb for flower strip distances. *Journal of Hymenoptera Research*, 77, 105–117. <https://doi.org/10.3897/jhr.77.51182>
- Ivanina, A. V., Cherkasov, A. S., & Sokolova, I. M. (2008). Effects of cadmium on cellular protein and glutathione synthesis and expression of stress proteins in eastern oysters, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Journal of Experimental Biology*, 211(4), 577–586. <https://doi.org/10.1242/jeb.011262>
- Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A. T., Maia, U. M., Blochtein, B., Lopes De Carvalho, C. A., Carvalho-Zilse, G. A., Freitas, B. M., Menezes, C., De Ribeiro, M. F., Venturieri, G. C., & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2015). Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121157>
- Jha, A. N. (2008). Ecotoxicological applications and significance of the comet assay. *Mutagenesis*, 23(3), 207–221. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen014>
- Kammann, U., Biselli, S., Hühnerfuss, H., Reineke, N., Theobald, N., Vobach, M., & Wosniok, W. (2004). Genotoxic and teratogenic potential of marine sediment extracts investigated with comet assay and zebrafish test. *Environmental Pollution*, 132(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.04.021>
- Kearns, C. A., Inouye, D. W., & Waser, N. M. (1998). Endangered Mutualism: The Conservation of Plant-Pollinator Interactions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 83–112. [https://doi.org/0066-4162/98/1120-0083\\$08.00](https://doi.org/0066-4162/98/1120-0083$08.00)
- Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. In *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 274, Issue 1608, pp. 303–313). Royal Society. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>

- 1235 Klein, S., Cabirol, A., Devaud, J. M., Barron, A. B., & Lihoreau, M. (2017). Why
1236 Bees Are So Vulnerable to Environmental Stressors. In *Trends in Ecology*
1237 *and Evolution* (Vol. 32, Issue 4, pp. 268–278). Elsevier Ltd.
1238 <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.12.009>
- 1239 Koller, V. J., Fürhacker, M., Nersesyan, A., Mišík, M., Eisenbauer, M., &
1240 Knasmueller, S. (2012). Cytotoxic and DNA-damaging properties of
1241 glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Archives*
1242 *of Toxicology*, 86(5), 805–813. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0804-8>
- 1243 Kremen, C. (2005). Managing ecosystem services: What do we need to know
1244 about their ecology? In *Ecology Letters* (Vol. 8, Issue 5, pp. 468–479).
1245 <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00751.x>
- 1246 Kumaravel, T. S., Brabu, B., Parthiban, N., Murugan, S. S., & Jha, A. N. (2021).
1247 ‘Site of contact genotoxicity’ assessment for implants - Potential use of single
1248 cell gel electrophoresis in biocompatibility testing of medical devices.
1249 *Toxicology Letters*, 341, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.01.024>
- 1250 Lechinovski, L. (2023). *Avaliação dos efeitos toxicológicos de micropartículas*
1251 *provenientes de máscaras descartáveis no organismo-teste Oreochromis*
1252 *niloticus* (Master's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).
- 1253 Lee, R. F., & Steinert, S. (2003). Use of the single cell gel electrophoresis/comet
1254 assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals.
1255 *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 544(1), 43–64.
1256 [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00017-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00017-6)
- 1257 Leite, L. C. O. F., Pereira, R. de O., & Silva, J. B. G. (2023). Ferramenta para a
1258 priorização do monitoramento de agrotóxicos em mananciais hídricos.
1259 *Revista Em Agronegócio e Meio Ambiente*, 16(2), 1–24.
1260 <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2023v16n2e9968>
- 1261 Leonhardt, S. D., Gallai, N., Garibaldi, L. A., Kuhlmann, M., & Klein, A. M. (2013).
1262 Economic gain, stability of pollination and bee diversity decrease from
1263 southern to northern Europe. *Basic and Applied Ecology*, 14(6), 461–471.
1264 <https://doi.org/10.1016/j.baae.2013.06.003>
- 1265 Lima, J. S. D. (2022). Uso de larvas de *Tenebrio molitor* na nutrição do jundiá.
- 1266 Lima-Junior, D. P., Lima, L. B., Carnicer, C., Zanella, R., Prestes, O. D., Floriano,
1267 L., & De Marco Júnior, P. (2024). Exploring the relationship between land-use
1268 and pesticides in freshwater ecosystem: A case study of the Araguaia River
1269 Basin, Brazil. *Environmental Advances*, 15.
1270 <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2024.100497>
- 1271 Łopieńska-Biernat, E., Sokół, R., Michalczyk, M., Żółtowska, K., & Stryński, R.
1272 (2017). Estado bioquímico de las abejas silvestres ferales (*Apis mellifera*)
1273 infestadas con diversos patógenos. *Journal of Apicultural Research*, 56(5),
1274 606–615. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1343020>
- 1275 Luiz De Oliveira, M., & Cunha, J. A. (2005). *Abelhas africanizadas Apis mellifera*
1276 *scutellata Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram*
1277 *recursos na floresta amazônica? Do Africanized honeybees explore*
1278 *resources in the Amazonian forest?*

- 1279 Lunardi, J. S. (2022). Efeito de herbicidas no comportamento e morfologia de
1280 abelhas *Apis mellifera* L.
- 1281 Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic
1282 animals. In *Aquatic Toxicology* (Vol. 101, Issue 1, pp. 13–30).
1283 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- 1284 Magalhães, D. P., & FEerrão Filho, O. A. S. (2008). A ecotoxicologia como
1285 ferramenta no biomonitoramento De ecossistemas aquáticos. In *Oecol. Bras*
1286 (Vol. 12, Issue 3).
- 1287 Martins, A. W. S., Silveira, T. L. R., Remião, M. H., Domingues, W. B., Dellagostin,
1288 E. N., Junior, A. S. V., Corcini, C. D., Costa, Pa. G., Bianchini, A., Somoza,
1289 G. M., Robaldo, R. B., & Campos, V. F. (2021). Acute exposition to Roundup
1290 Transorb® induces systemic oxidative stress and alterations in the
1291 expression of newly sequenced genes in silverside fish (*Odontesthes*
1292 *humensis*). *Environmental Science and Pollution Research*, 28(46), 65127–
1293 65139. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15239-w>
- 1294 Martins, C. C. C., Waldschmidt, A. M., & Costa, M. A. (2014). Unprecedented
1295 record of ten novel B chromosomes in the stingless bee *Partamona helleri*
1296 (Apidae, Meliponini). *Apidologie*, 45(4), 431–439.
1297 <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0257-y>
- 1298 Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Dias, A. L., Fonseca, I.
1299 C., & Marin-Morales, M. A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water
1300 contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test
1301 and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome
1302 aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 148–158.
- 1303 Mesnage, R., Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J., & Séralini, G. E. (2015).
1304 Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below
1305 regulatory limits. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 133–153.
1306 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.08.012>
- 1307 Møller, P. (2006). The alkaline comet assay: Towards validation in biomonitoring
1308 of DNA damaging exposures. In *Basic and Clinical Pharmacology and*
1309 *Toxicology* (Vol. 98, Issue 4, pp. 336–345). [https://doi.org/10.1111/j.1742-](https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_167.x)
1310 [7843.2006.pto_167.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_167.x)
- 1311 Moore, M. N., & Simpson, M. G. (1992). Molecular and cellular pathology in
1312 environmental impact assessment. *Aquatic Toxicology*, 22(4), 313–322.
1313 [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(92\)90047-Q](https://doi.org/10.1016/0166-445X(92)90047-Q)
- 1314 Moreira, F. D. S. (2020). *Impactos das mudanças climáticas sobre a distribuição*
1315 *geográfica de Itapotihyla langsdorffii* (ANURA: HYLIDAE) (Master's thesis,
1316 Universidade Federal de Pelotas).
- 1317 Motta, E. V. S., & Moran, N. A. (2023). The effects of glyphosate, pure or in
1318 herbicide formulation, on bumble bees and their gut microbial communities.
1319 *Science of the Total Environment*, 872.
1320 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162102>
- 1321 Motta, E. V. S., Raymann, K., & Moran, N. A. (2018). Glyphosate perturbs the gut
1322 microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*

- 1323 of the United States of America, 115(41), 10305–10310.
1324 <https://doi.org/10.1073/pnas.1803880115>
- 1325 Nicholson, S., & Lam, P. K. S. (2005). Pollution monitoring in Southeast Asia using
1326 biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). In
1327 *Environment International* (Vol. 31, Issue 1, pp. 121–132). Elsevier Ltd.
1328 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.05.007>
- 1329 Nogueira-Neto, P. (1997). Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão.
1330 In *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão* (pp. 446–446).
- 1331 Oliveira, R. J. , S. M. J. S. , S. A. F. , K. T. Y. N. , L. A. C. S. L. , Leite. , V. S. ,
1332 Matiazi. , H. J. , Pesarini. , J. , Ribeiro. , L. R. , M. M. S. (2013). *In vivo*
1333 *evaluation of the antimutagenic and antigenotoxic effects of b-glucan*
1334 *extracted from Saccharomyces cerevisiae in acute treatment with multiple*
1335 *doses*. www.sbg.org.br
- 1336 Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are
1337 pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326.
1338 <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- 1339 Page, R. E., & Peng, C. Y.-S. (2001). Aging and development in social insects
1340 with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. In *Experimental*
1341 *Gerontology* (Vol. 36). www.elsevier.nl/locate/expgero
- 1342 Panis, C., Candiottto, L. Z. P., Gaboardi, S. C., Gurzenda, S., Cruz, J., Castro, M.,
1343 & Lemos, B. (2022). Widespread pesticide contamination of drinking water
1344 and impact on cancer risk in Brazil. *Environment International*, 165.
1345 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107321>
- 1346 Pereira De Oliveira, M., Doutor, O. :, Horta, J. M., Silva, C., Doutor, S., José, P.,
1347 Branco, L., Susana, D., & Amaral, D. (2022). *Avaliação dos efeitos do*
1348 *inseticida piretróide esfenvalerato na atividade comportamental de uma*
1349 *espécie piscícola exótica, o alburno (Alburnus alburnus), num sistema de*
1350 *mesocosmos Engenharia do Ambiente*.
- 1351 Peris, A., Barbieri, M. V., Postigo, C., Rambla-Alegre, M., López de Alda, M., &
1352 Eljarrat, E. (2022). Pesticides in sediments of the Ebro River Delta cultivated
1353 area (NE Spain): Occurrence and risk assessment for aquatic organisms.
1354 *Environmental Pollution*, 305. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119239>
- 1355 Pignati, W. A. , M. J. M. H. , C. J. F. (2019). Acidente rural ampliado: o caso das
1356 “chuvas” de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde - MT. *Saúde*
1357 *e Ciência Coletiva*, 12, 105–114.
- 1358 Pignati, W. A., Lima, F. A. N. de S. e, Lara, S. S. de, Correa, M. L. M., Barbosa,
1359 J. R., Leão, L. H. da C., & Pignatti, M. G. (2017). Distribuição espacial do uso
1360 de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde.
1361 *Ciência & Saúde Coletiva*, 22(10), 3281–3293. [https://doi.org/10.1590/1413-](https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017)
1362 [812320172210.17742017](https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017)
- 1363 Pires, C. S. S., Pereira, F. de M., Lopes, M. T. do R., Nocelli, R. C. F., Malaspina,
1364 O., Pettis, J. S., & Teixeira, É. W. (2016). Enfraquecimento e perda de
1365 colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? *Pesquisa Agropecuária*
1366 *Brasileira*, 51(5), 422–442. [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500003)
1367 [204X2016000500003](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500003)

- 1368 Poletto, N. P. (2008). *Estudo do papel da homeostase do cálcio na reparação de*
 1369 *danos no DNA em diferentes linhagens**Estudo do papel da homeostase do*
 1370 *cálcio na reparação de danos no DNA em diferentes linhagens de*
 1371 *Saccharomyces cerevisiae de Saccharomyces cerevisiae.*
- 1372 Possidônio De Amarante Junior, O., Rodrigues, T. C., & Santos, D. (2002).
 1373 Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. In *Quim. Nova* (Vol.
 1374 25, Issue 4).
- 1375 RAMOS, J. M., & Carvalho, N. D. (2007). Estudo morfológico e biológico das fases
 1376 de desenvolvimento de *Apis mellifera*. *Revista científica eletrônica de*
 1377 *Engenharia Florestal*, 6(10), 1-21.
- 1378 Relyea, R. A. (2005). The Impact of Insecticides and Herbicides on the Biodiversity
 1379 and Productivity of Aquatic. In *Source: Ecological Applications* (Vol. 15, Issue
 1380 2).
- 1381 Rinderer, T. E. (1998). Morphometric, biochemical, and molecular
 1382 approaches. *Acta zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 44(1-2),
 1383 177-194.
- 1384 Roman, S. S., Scolari, S., Bergamin, N. A., & Sachetti, C. G. (2009). Toxicidade
 1385 renal e hepática em camundongos prenhes expostos à associação do ácido
 1386 2, 4 diclorofenoxiacético e do glifosato. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 6(2).
 1387 <https://doi.org/10.5216/ref.v6i2.6562>
- 1388 RUBIO, F.; EMILY, G. (2014). Survey of Glyphosate Residues in Honey, Corn and
 1389 Soy Products. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 05(01).
 1390 <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000249>
- 1391 Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the
 1392 entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232, 8–27.
 1393 <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>
- 1394 Santos, M. J. B. A. (2022). *Avaliação do efeito protetor do ácido fítico contra o*
 1395 *dano ao DNA induzido por estresse oxidativo.*
- 1396 Sharma, R. K., Patel, S., & Pargaian, K. C. (2012). Synthesis, characterization
 1397 and properties of Mn-doped ZnO nanocrystals. *Advances in Natural*
 1398 *Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 3(3).
 1399 <https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/3/035005>
- 1400 Shetty, B. R., Jagadeesha, P. B., & Salmataj, S. A. (2025). Heavy metal
 1401 contamination and its impact on the food chain: exposure, bioaccumulation,
 1402 and risk assessment. *CyTA - Journal of Food*, 23(1).
 1403 <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2438726>
- 1404 Sies, H. (1991). Klinische Wochen-schrift Role of Reactive Oxygen Species in
 1405 Biological Processes. In *Klin Wochenschr* (Vol. 69).
- 1406 Silva, C. T. D., & Jasiulionis, M. G. (2014). Relação entre estresse oxidativo,
 1407 alterações epigenéticas e câncer. *Ciência e cultura*, 66(1), 38-42.
- 1408 Silveira, T., Kütter, M. T., Martins, C. M. G., Marins, L. F., Boyle, R. T., Campos,
 1409 V. F., & Remião, M. H. (2021). First Record of *Clinostomum* sp. (Digenea:
 1410 Clinostomidae) in *Danio rerio* (Actinopterygii: Cyprinidae) and the Implication

- 1411 of Using Zebrafish from Pet Stores on Research. *Zebrafish*, 18(2), 139–148.
 1412 <https://doi.org/10.1089/zeb.2020.1950>
- 1413 Stefanini, M., Martino, C., & Zamboni, L. (1967). Fixation of Ejaculated
 1414 Spermatozoa for Electron Microscopy. *Nature*, 216(5111), 173–174.
 1415 <https://doi.org/10.1038/216173a0>
- 1416 Szarek, J., Siwicki, A., Andrzejewska, A., Terech-Majewska, E., & Banaszkiewicz,
 1417 T. (2000). *Effects of the herbicide Roundup TM on the ultrastructural pattern*
 1418 *of hepatocytes in carp (Cyprinus carpio)*.
 1419 www.elsevier.com/locate/marenvrev
- 1420 Tan, S., Li, G., Liu, Z., Wang, H., Guo, X., & Xu, B. (2022). Effects of glyphosate
 1421 exposure on honeybees. In *Environmental Toxicology and Pharmacology*
 1422 (Vol. 90). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103792>
- 1423 Teh, S. J., Adamsb, S. M., & Hinton, D. E. (1997). Histopathologic biomarkers in
 1424 feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant
 1425 stress. In *Aquatic Toxicology* (Vol. 37).
- 1426 Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T., &
 1427 Satayavivad, J. (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells
 1428 growth via estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 129–136.
 1429 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.057>
- 1430 Tice, D. M., Butler, J. L., Muraven, M. B., & Stillwell, A. M. (1995). When modesty
 1431 prevails: Differential favorability of self-presentation to friends and strangers.
 1432 *Journal of Personality and Social Psychology*, 69(6), 1120–1138.
 1433 <https://doi.org/10.1037/0022-3514.69.6.1120>
- 1434 vanEngelsdorp, D., & Meixner, M. D. (2010). A historical review of managed honey
 1435 bee populations in Europe and the United States and the factors that may
 1436 affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(SUPPL. 1).
 1437 <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>
- 1438 Wendling, G. G., & Bargas, D. C. (2023). Análise dos altos números de
 1439 concessões de registro a agrotóxicos de 2017 a 2022 no Brasil e suas
 1440 possíveis consequências. *Boletim Paulista de Geografia*, 1(110), 7-31..
 1441 <https://doi.org/10.61636/bpg.v1i110.2963>
- 1442 Wiese. H. (2005). *APICULTURA novos tempos* (2nd ed.).
- 1443 Winter, S., Bauer, T., Strauss, P., Kratschmer, S., Paredes, D., Popescu, D.,
 1444 Landa, B., Guzmán, G., Gómez, J. A., Guernion, M., Zaller, J. G., & Batáry,
 1445 P. (2018). Effects of vegetation management intensity on biodiversity and
 1446 ecosystem services in vineyards: A meta-analysis. In *Journal of Applied*
 1447 *Ecology* (Vol. 55, Issue 5, pp. 2484–2495). Blackwell Publishing Ltd.
 1448 <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13124>
- 1449 Woodcock, B. A., Bullock, J. M., Shore, R. F., Heard, M. S., Pereira, M. G.,
 1450 Redhead, J., Ridding, L., Dean, H., Sleep, D., Henrys, P., Peyton, J., Hulmes,
 1451 S., Hulmes, L., Sárospataki, M., Saure, C., Edwards, M., Genersch, E.,
 1452 Knäbe, S., & Pywell, R. F. (2017). Country-specific effects of neonicotinoid
 1453 pesticides on honey bees and wild bees. *Science*, 356(6345), 1393–1395.
 1454 <https://doi.org/10.1126/science.aaa1190>

- Zaluski, R., Kadri, S. M., Alonso, D. P., Martins Ribolla, P. E., & de Oliveira Orsi, R. (2015). Fipronil promotes motor and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) and affects the development of colonies exposed to sublethal doses. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(5), 1062–1069. <https://doi.org/10.1002/etc.2889>
- Zanette, L. R. S., Martins, R. P., & Ribeiro, S. P. (2005). Effects of urbanization on Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and Urban Planning*, 71(2–4), 105–121. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2004.02.003>
- Zelaya., M. J. . C. J. L. B. F. A. V. G. V. , O. E. K. M. E. O. G. A. M. (2004). Análisis de Glifosato y AMPA en Balcarce: Cromatografía Líquida y Espectrometría de masas. . *Aspectos Ambientales Del Uso de Glifosato* , 35.
- Zhang, L., Rana, I., Shaffer, R. M., Taioli, E., & Sheppard, L. (2019). Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 781, 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.02.001>
- Zhang, W., Xu, M., Feng, Y., Mao, Z., & Yan, Z. (2024). The Effect of Procrastination on Physical Exercise among College Students—The Chain Effect of Exercise Commitment and Action Control. *International Journal of Mental Health Promotion*, 26(8), 611–622. <https://doi.org/10.32604/ijmh.2024.052730>
- Zhu, X., Mahurin, S. M., An, S. H., Linh Do-Thanh, C., Tian, C., Li, Y., Gill, L. W., Hagaman, E. W., Bian, Z., Zhou, J. H., Hu, J., Liu, H., & Dai, S. (2014). Efficient CO₂ capture by a task-specific porous organic polymer bifunctionalized with carbazole and triazine groups. *Chemical Communications*, 50(59), 7933–7936. <https://doi.org/10.1039/c4cc01588f>

CAPÍTULO II

7 ANÁLISE DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO GLIFOSATO EM ABELHAS APIS MELLIFERA POR MEIO DO ENSAIO DO COMETA, HISTOPATOLOGIA E AVALIAÇÕES ENZIMÁTICAS

**Polyana Mayume P. da Siva¹, Raquel Soares Juliano², Rodrigo Zaluski³, Alda
Izabel de Souza⁴**

1. ORCID: 0000-0001-5884-5143, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo
Grande – MS, Avenida Senador Felinto Muller, 2443, CEP: 79070-900, Campo Grande, MS,
Brasil

Email.polyana.mayume07@gmail.com

2. ORCID: 0000-0002-1692-4801, Embrapa Pantanal, Corumbá- MS, Rua 21 de Setembro
número 1880, MS, 79320-900, Corumbá, MS, Brasil

3. ORCID: 0000-0002-8372-6047, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo
Grande – MS, Avenida Senador Felinto Muller, 2443, CEP: 79070-900, Campo Grande, MS,
Brasil

4. ORCID: 0000-0002-8256-826X, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo
Grande – MS, Avenida Senador Felinto Muller, 2443, CEP: 79070-900, Campo Grande, MS,
Brasil

RESUMO

O presente estudo investigou o potencial genotóxico do herbicida glifosato em abelhas
Apis mellifera, por meio de ensaios do cometa, análises enzimáticas e
histopatológicas. As abelhas expostas a concentrações crescentes de glifosato (50,
100 e 200 µg/µL) evidenciaram danos ao DNA, alterações estruturais no tecido
intestinal e estresse oxidativo, observados por meio de alterações na atividade das
enzimas antioxidantes SOD e CAT. Os resultados sugerem que o glifosato
compromete a integridade celular, o metabolismo e a imunidade das abelhas, com
implicações negativas para a polinização e a sobrevivência das colônias. Embora os
experimentos tenham sido conduzidos em condições laboratoriais, os achados
reforçam a necessidade de validação em ambientes naturais e destacam a urgência

de revisar o uso do herbicida. O estudo ressalta a importância de práticas agrícolas sustentáveis e medidas regulatórias para conciliar a produtividade agrícola com a preservação dos polinizadores, essenciais à biodiversidade e à segurança alimentar.

Declaração de conflito de interesses

Os autores do artigo afirmam que não se encontram em situações de conflito de interesse que possam influenciar o desenvolvimento do trabalho, tais como emissão de pareceres, propostas de financiamento, promoções ou participação em comitês consultivos ou diretivos, participação em periódicos patrocinados, assim como qualquer relação financeira ou de outra natureza com pessoas ou organizações que possam influenciar o trabalho de forma inapropriada.

8 INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos importantes para manutenção ecológica e desenvolvimento do planeta, desempenhando um papel crucial na polinização de plantas cultivadas e silvestres (Ollerton et al., 2011). Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura (FAO), o valor econômico gerado pela polinização das abelhas gera em torno de US\$ 577 bilhões anuais, no entanto o declínio acentuado destes insetos pode desencadear sérios problemas futuros. Estudos sugerem que, sem as abelhas, a produção de alimentos diminuiria significativamente, ocasionando um colapso dos ecossistemas e assim, a insegurança alimentar global (Fao, 2018 a).

Nos últimos anos, a população das abelhas vem sofrendo uma diminuição significativa em várias regiões do mundo. Entre os fatores que contribuem para essa diminuição estão, perda de habitat decorrente da expansão urbana, mudanças climáticas desencadeadas pela poluição ambiental e o uso intensivo de agrotóxicos, que contribuem para possíveis alterações genotóxicas nestes insetos comprometendo assim, sua saúde, e conseqüentemente, a qualidade ambiental dos ecossistemas em que habitam (Beringer & Maciel, 2019).

Alterações genotóxicas consistem em mudanças no material genético celular, que podem ser causadas por agentes físicos, químicos ou biológicos, podendo levar a mutações, aberrações cromossômicas e outras formas de dano ao DNA (Lima-Junior et al., 2024). Para examinar a presença de agentes genotóxicos no ambiente,

diversos testes como teste do micronúcleo, mensuração de radiação, análise da qualidade da água e do solo entre outros. Porém, os de melhor escolha devido sua alta sensibilidade e baixo custo são o ensaio do cometa, que permite detectar danos no DNA em nível celular, ensaios enzimáticos como a superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) e análise histopatológica (SILVA; JASIULIONIS, 2014; Fridovich, 1997; Lushchak, 2011; A. W. S. Martins et al., 2021).

Esses testes têm sido aplicados em abelhas para monitorar a qualidade ambiental de diferentes áreas, possibilitando a avaliação do impacto de atividades humanas, como o uso de agrotóxicos, sobre a saúde das populações de abelhas, tornando possível análise de mudanças ambientais, impactos na biodiversidade e na segurança alimentar (Celli & Maccagnani, 2003; S. Klein et al., 2017)).

A realização do biomonitoramento ambiental utilizando abelhas como indicador, auxiliará na identificação de áreas impactadas pelo uso exacerbado de agrotóxicos, criando assim, ações para mitigar e realizar a conservação, promovendo um desenvolvimento sustentável, equilibrando a preservação ambiental, o que está alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), com ênfase o ODS 15, que aborda a proteção, restauração e promoção sustentável dos ecossistemas terrestres (United Nations, 2015; FAO, 2018 b).

A utilização de abelhas como bioindicadoras em estudos genotóxicos tem se mostrado eficaz na identificação de áreas com potencial risco ambiental. Estudos realizados em várias regiões do mundo demonstraram que abelhas expostas a ambientes contaminados apresentam maiores níveis de danos genotóxicos, o que reforça a importância desses insetos na avaliação da qualidade ambiental ((Bargańska et al., 2016; da Costa Domingues et al., 2020; S. Klein et al., 2017). Entretanto, existe uma escassez do uso desta espécie como bioindicador da qualidade ambiental para os biomas brasileiros, principalmente no Pantanal e Cerrado. Diante disso, este trabalho tem como objetivo avaliar *in situs* a toxicidade do herbicida glifosato para abelhas do gênero *Apis mellifera* como modelo experimental para o biomonitoramento e avaliação da qualidade ambiental.

9 MATERIAIS E MÉTODOS

9.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

Foram utilizadas abelhas recém-nascidas de *A. mellifera*, oriundas de colmeias mantidas no apiário da Fazenda Escola da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), localizado no município de Terenos- MS, cujas coordenadas geográficas são: latitude de 20°26'32" sul e longitude de 54°51'37" oeste. Foram verificadas as condições de saúde das colônias com base nas diretrizes para avaliação de xenobióticos em abelhas seguindo as recomendações da OECD, 1998.

9.2 COLETA E ACONDICIONAMENTO DAS ABELHAS

Foram coletados favos com crias fechadas contendo operárias prestes a emergir. Os favos foram provenientes de cinco colmeias distintas, que se encontravam em condições fisiológicas normais, livre de doenças, com cria em todos os estágios de desenvolvimento e rainha jovem em postura. As coletas foram realizadas no período matutino no mês de agosto de 2023, colocando os favos em um envelope de tela que cobriu todo o quadro.

Os quadros contendo pupas de *A. mellifera* foram transportadas para estufa de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) e mantidos a 33°C ±1°C e umidade relativa de 70% ±5%, protegidas da luz, em condições semelhantes às da colmeia por 24 horas. Após este período, dez abelhas recém-nascidas foram acondicionadas em potes descartáveis plásticos de 250 mL (9,5 × 11,5 × 2,5 cm), dotadas de orifícios para ventilação e equipadas com microtubos fenestrados para suprimento de água e alimento, um total de 24 unidades experimentais foram utilizadas totalizando 240 abelhas. Durante o experimento, nos grupos testes e controle a oferta de água e alimento foi constante, com reposição a cada 12 horas

Após a conclusão do período de exposição estipulado para cada grupo, as abelhas foram congeladas (-80°C) até a realização dos testes enzimáticos.

9.3 DILUIÇÃO DO GLIFOSATO E EXPOSIÇÃO DAS ABELHAS

A metodologia empregada para determinação da concentração de glifosato para intoxicação simulada via ingestão oral seguiu as recomendações da OECD (2017) e de Zaluski et al., (2015), com algumas adaptações. Para determinação das doses apropriadas para os testes de toxicidade, ensaios prévios com glifosato (Roundup Original DI® 445 g i.a/L, concentrado solúvel,) foram realizados, utilizando

três concentrações de fator 5 da solução mãe, para alcançar as dosagens permitidas em água e pólen, pela (BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA, 2020) As concentrações escolhidas foram de: 50, 150 e 200 partes por bilhão (ppb) que foram diluídas em água destilada para atingir as concentrações finais, as sucessivas diluições foram realizadas no alimento (xarope de açúcar a 50%) e mantida durante todo o experimento.

Para cada concentração foram utilizados 10 indivíduos recém-nascidos e os testes realizados em triplicatas. As abelhas foram avaliadas em dois tempos de exposição, sendo um de 96 e outro de 120 horas, totalizando 24 unidades experimentais e 240 abelhas. O grupo controle recebeu apenas água e xarope de sacarose livre de glifosato. As abelhas foram mantidas em estufa BOD durante todo o experimento a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 5\%$, protegidas da luz. Durante todo o experimento não houve registro de mortalidade em todos os grupos de abelhas.

9.4 PROCESSAMENTO DE ÓRGÃOS E ANÁLISE HISTOPATOLOGICA

Para cada grupo experimental, 10 abelhas foram dissecadas em solução salina (0,1 M NaCl, 0,2 M KH_2PO_4 e 0,2 M Na_2HPO_4) com auxílio de de pinças e lupa. Após a dissecação, os intestinos médios foram fixados em formalina 10% e processado rotineiramente para histopatologia e corados com hematoxilina e eosina (HE), seguindo as recomendações de (STEFANINI et al., 1967)

As lâminas contendo os cortes histológicos dos órgãos de cada grupo experimental foram coradas rotineiramente com hematoxilina e eosina para posterior análise histológica, conforme descrito por Junqueira (1983). A avaliação foi realizada em microscópio de luz, utilizando objetivas de 10x, 40x e 100x. Para cada abelha, foram analisadas duas lâminas contendo cinco cortes histológicos de 6 μm de espessura. O número total de amostras analisadas foi de $n = 10$ para cada grupo experimental do bioensaio. A determinação da média do grau de lesão tecidual foi baseada na adaptação do protocolo descrito por Bernet et al. (1999), considerando três categorias de lesão: (1) lesões facilmente reversíveis, (2) alterações moderadas com potencial de reversão após a interrupção da exposição e (3) lesões irreversíveis."

9.5 ENSAIO ENZIMÁTICO

A metodologia empregada para a avaliação das enzimas seguiu o protocolo descrito por (Ceschi-Bertoli et al., 2020), com o cuidado de manter a temperatura das amostras a um máximo de 8°C. Foram utilizados tecidos provenientes do abdômen, cabeça, tórax e asas de cada unidade experimental (10 abelhas) diluídos em 1 mL de solução tampão fosfatada (4°C a 8°C) e macerados até total homogeneização.

Na sequência, o homogeneizado resultante foi submetido a centrifugação em 10.000 g por um período de 10 minutos, utilizando uma centrífuga refrigerada a 4°C, sendo o sobrenadante resultante usado nos testes.

Na avaliação da atividade da SOD, foi empregado o kit *Superoxide Dismutase Colorimetric Activity Kit (Invitrogen, ThermoFisher Scientific®)*, seguindo protocolo recomendado pelo fabricante, o qual permite a medição de todos os tipos de atividade dessa enzima, abrangendo as formas Cu/Zn, Mn e FeSOD. As amostras diluídas foram misturadas com o substrato, seguido pela adição do reagente contendo xantina oxidase, sendo então incubadas à temperatura ambiente durante um período de 20 minutos. A leitura do ensaio espectrofotométrico foi gerado pelo equipamento Multiskan da Thermo Scientific, com a leitura feita no comprimento de onda de 450 nm.

Para avaliação da atividade da CAT, empregou-se o kit *Amplex Red Catalase Assay Kit (Invitrogen, ThermoFisher Scientific®)*. No decorrer do ensaio, as amostras contendo catalase inicialmente reagem com o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), resultando na produção de água e oxigênio. Posteriormente, o reagente denominado Amplex Red reage com qualquer H₂O₂ não consumido na presença de peroxidase de rábano, dando origem a um produto de oxidação altamente fluorescente, conhecido como resorufina. A leitura do ensaio espectrofotométrico foi gerado pelo equipamento Multiskan da *Thermo Scientific*, com a leitura efetuada a um comprimento de onda de 560 nm.

9.6 PROTOCOLO ENSAIO DO COMETA

Para avaliação dos cometas foi realizado o protocolo de ensaio seguindo as recomendações de Ceschi-Bertoli et al., (2020). utilizando o intestino médio das abelhas expostas nos tempos de 96 e 120 horas, nas doses de 50, 100 e 200 ppb.

1692 9.7 PREPARO DAS LÂMINAS

1693 As lâminas foram preparadas com um dia de antecedência. Diluiu-se a Agarose
1694 de Grau Técnico Genético (GTG) (Agarose GTG 0,3 g, Phosphate Buffered Saline 20
1695 mL), fervendo-a três vezes. Em seguida, as lâminas foram mergulhadas no gel
1696 preparado, utilizando um porta lâminas tipo frasco. A parte de baixo foi limpa para
1697 secarem overnight em ambiente controlado, à temperatura ambiente. Os intestinos
1698 médios das abelhas foram sonicados por dez minutos em 100 µL de PBS, após esse
1699 processo, 35 µL da amostra foram transferidos para um Eppendorf ao qual adicionou-
1700 se 80 µL de Agarose Low Electroendosmosis (LE) (Agarose-LE 0,1 g, Phosphate
1701 Buffered Saline 20 mL). Assim, utilizando uma micropipeta, os 115 µL, agora
1702 presentes no Eppendorf, foram acomodados na lâmina gelificas previamente
1703 preparada. Colocou-se uma lamínula sobre a amostra imediatamente que a mesma
1704 (amostra) foi adicionada à lâmina. Ao final do processo, as lâminas foram resfriadas a
1705 4 °C por dez minutos e, em seguida, as lamínulas foram cuidadosamente retiradas.

1706 9.8 TRATAMENTO COM SOLUÇÃO DE LISE

1707 As lâminas histológicas foram submersas na Solução de Lise Uso, durante
1708 uma hora e trinta minutos. Essa solução foi produzida a partir de 133,5 mL de uma
1709 Solução de Lise Estoque (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, N-Lauroyl-
1710 sarcosine 1%), 13,5 mL de Dimetilsulfoxido (DMSO 9%) e 3 mL de Triton X-100 (2%),
1711 duas horas antes do uso para atingir 4 °C. Passado o tempo, as lâminas foram
1712 removidas da solução e submetidas a um banho com Solução de Neutralização (Tris
1713 10 265 mM, pH 7,5) durante cinco minutos.

1714

1715 9.9 ELETROFORESE

1716 As lâminas foram dispostas dentro da cuba eletroforética com a parte fosca
1717 (identificação) voltada para o polo positivo. A Solução de Eletroforese (EDTA 100 mM,
1718 NaOH 0,3 M) a 4 °C foi adicionada e as lâminas permaneceram trinta minutos em
1719 descanso nesta solução. Passado esse tempo, a fonte eletroforética foi ligada e
1720 ajustada para os parâmetros 25 volts (1V/cm), 300 mA, e tempo de corrida de 180
1721 minutos. Após a corrida, as lâminas foram retiradas da cuba e lavadas com Solução

de Neutralização (Tris 10 mM, pH 7,5) por 5 minutos, repetindo o processo 3 vezes. As lâminas foram fixadas em metanol (CH₃OH), e coradas com brometo de etídio (C₂₁H₂₀BrN₃).

As lâminas histológicas foram analisadas com a utilização de um fotomicroscópio (Leica® DM1000), estabelecendo padrões comparativos entre as lâminas dos indivíduos do grupo exposto e as lâminas dos indivíduos controle. O material foi analisado em microscópio invertido de fluorescência (Leica® Microsystems-DMi8), em objetiva de 40X, com filtro de excitação de 420- 490 nm e filtro de barreira de 520 nm. Um total de 200 células de cada indivíduo foi analisado utilizando o *software* CometScore© para avaliar a porcentagem do DNA na cauda que é calculada com a intensidade do DNA na cauda (soma da densidade óptica (fluorescência) dos fragmentos de DNA na cauda) dividido pela intensidade total do DNA (soma da densidade óptica da cabeça e da cauda) multiplicado por 100 e comprimento do cometa que é simplesmente a soma das distâncias da cabeça e da cauda. Para excluir qualquer análise tendenciosa, um total de três lâminas por indivíduo foram lidas, a área total de todas as lâminas foi observada cuidadosamente realizando movimentos “zigue-zague”.

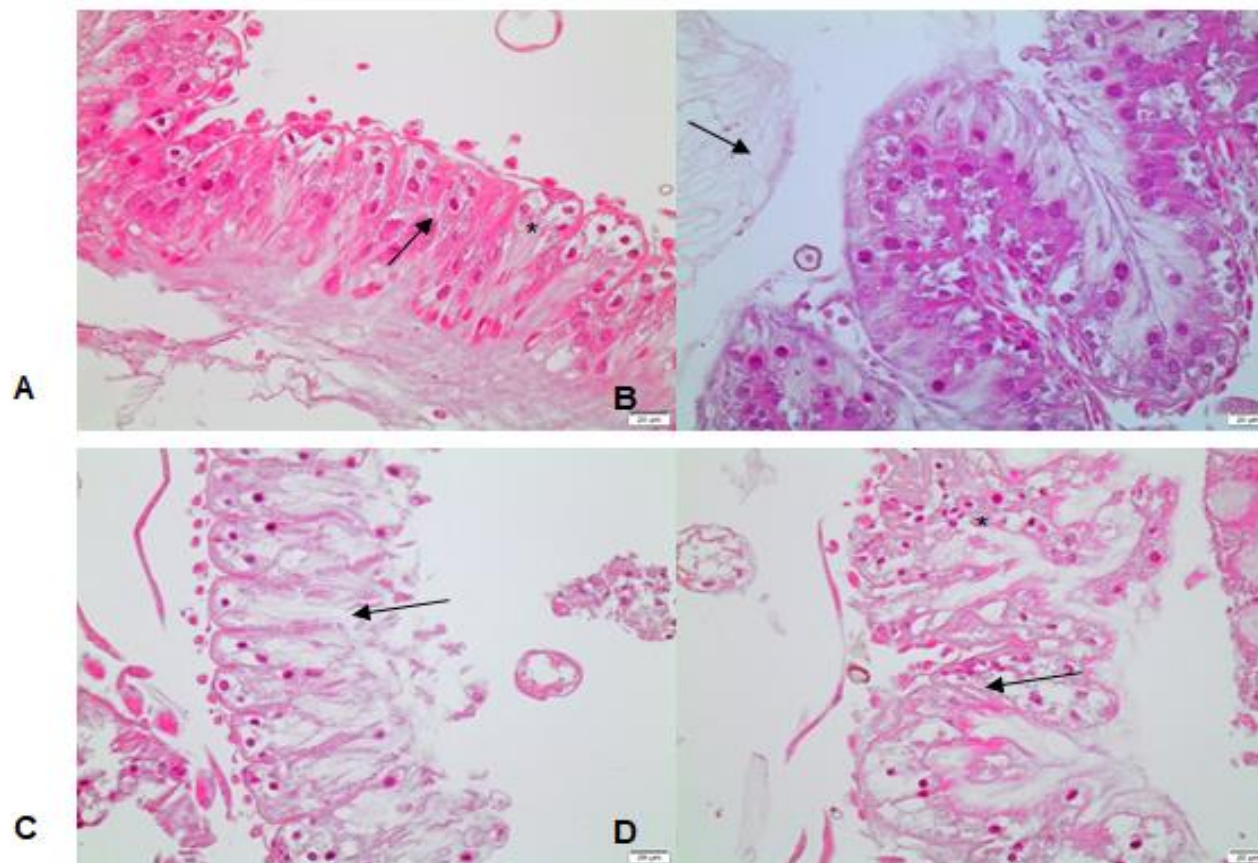
10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos dados obtidos nos ensaios do cometa e enzimáticos, inicialmente foram avaliados os pressupostos para a aplicação da análise de variância (ANOVA). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos resíduos, considerando um nível de significância de 5%. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), também a 5% de significância. Quando detectadas diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o mesmo nível de significância. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software BioEstat.

11 RESULTADOS

11.1 HISTOPATOLÓGICO

A análise histopatológica do intestino médio de *A. mellifera* expostas a diferentes concentrações de glifosato por 96 e 120 horas revelou alterações teciduais progressivas, dependentes tanto da concentração do agrotóxico quanto do tempo de exposição. No grupo controle, em ambos os tempos avaliados, a morfologia intestinal permaneceu preservada, com células digestivas bem-organizadas, microvilosidades íntegras e células regenerativas distribuídas uniformemente. Nenhuma alteração celular significativa ou sinais de degeneração tecidual foram observados, indicando a integridade estrutural normal do epitélio (Figura 5).



1776

1777 **Figura 5** Alterações histológicas no intestino médio de *Apis mellifera* africanizada após 96 horas de exposição ao glifosato. Coloração: Hematoxilina-Eosina

1778 (A) Controle: células digestivas preservadas, com tumefação discreta e cromatina granular.

1779 (B) Exposição a 50 µg/µL: redução das microvilosidades intestinais (seta).

1780 (C) Exposição a 100 µg/µL: tumefação das células digestivas (asterisco) e diminuição das microvilosidades intestinais (seta).

1781 (D) Exposição a 200 µg/µL: tumefação acentuada das células digestivas (seta) e cromatina celular granular (asterisco).

1782 Após 96 horas de exposição, as abelhas tratadas com 50 µg/µL de glifosato
1783 apresentaram alterações histopatológicas discretas, caracterizadas por leve
1784 vacuolização citoplasmática e discreta redução na altura das microvilosidades
1785 intestinais (Figura 5, painel B). Esses achados sugerem uma resposta inicial ao
1786 estresse tóxico, com potencial para recuperação celular caso a exposição seja
1787 interrompida. Essa alteração não foi estatisticamente significativa em relação ao grupo
1788 controle (Tabela 1).

1789 **Tabela 1.** Avaliação histopatológica do intestino médio de abelhas africanizadas expostas a diferentes concentrações de glifosato, com classificação dos graus
1790 de alteração tecidual baseada na adaptação do protocolo de Bernet et al. (1999), nos tempos experimentais de 96 e 120 horas."

Parâmetros	Controle 96 horas	50(µg/µL) 96 horas	100(µg/µL) 96 horas	200(µg/µL) 96 horas	p-valor	Controle 120 horas	50 (µg/µL) 120 horas	100(µg/µL) 120 horas	200(µg/µL) 120 horas	p-valor
Redução da espessura epitelial	0 ^a	2 ^b	1	1	<0,05	0	0	0	0	>0,05
Tumefação de células digestivas	0	0	0	0	>0,05	1	1	1	1	>0,05
Microvilosidades	0 ^a	3 ^b	2 ^b	0	<0,05	1	3	1	1	>0,05
Áreas de necrose	0	0	0	0	>0,05	0	0	0	0	>0,05
Ausência de células digestivas	1	1	1	1	>0,05	1	1	1	1	>0,05
Alteração das características nucleares	3	3	3	3	>0,05	3	3	3	3	>0,05
Tumefação de células regenerativas	2	2	2	2	>0,05	1 ^a	0	1	3 ^b	<0,05

1791 1- facilmente reversível; 2- alteração moderada com provável reversão após o fim da exposição e 3- alteração irreversível. * diferença estatística entre o grupo
1792 controle e os grupos tratados. letras diferentes representam diferença estatística entre o grupo controle e os grupos tratados nos tempos de 96 e 120 horas
1793 pelo teste TUKEY (p>0,05)

Nas amostras expostas a 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, as lesões se tornaram mais evidentes, incluindo degeneração epitelial moderada, aumento da vacuolização e desorganização das células regenerativas (Figura 5, painel C). Além disso, foi observada redução da altura das microvilosidades e condensação de cromatina nuclear, indicando o início de processos apoptóticos. Os danos celulares foram significativamente maiores do que aqueles observados nas abelhas do grupo controle (Tabela 1, $p < 0,05$)

No grupo exposto a 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, os danos histopatológicos severos foram caracterizados por acentuada vacuolização citoplasmática, perda extensa das microvilosidades e fragmentação da cromatina (Figura 5, painel D).

Com a extensão da exposição para 120 horas, a gravidade das lesões histopatológicas aumentou. No grupo tratado com 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, a tumefação de células digestivas e regenerativas se tornaram mais pronunciada, e a desorganização epitelial mais evidente em comparação às amostras de 96 horas, embora a preservação parcial das microvilosidades ainda indicasse um possível potencial de recuperação celular (Figura 6, painel B). Essas alterações não mostraram diferença estatística significativa em relação às amostras de 96 horas (Tabela 1, $p > 0,05$).

1811

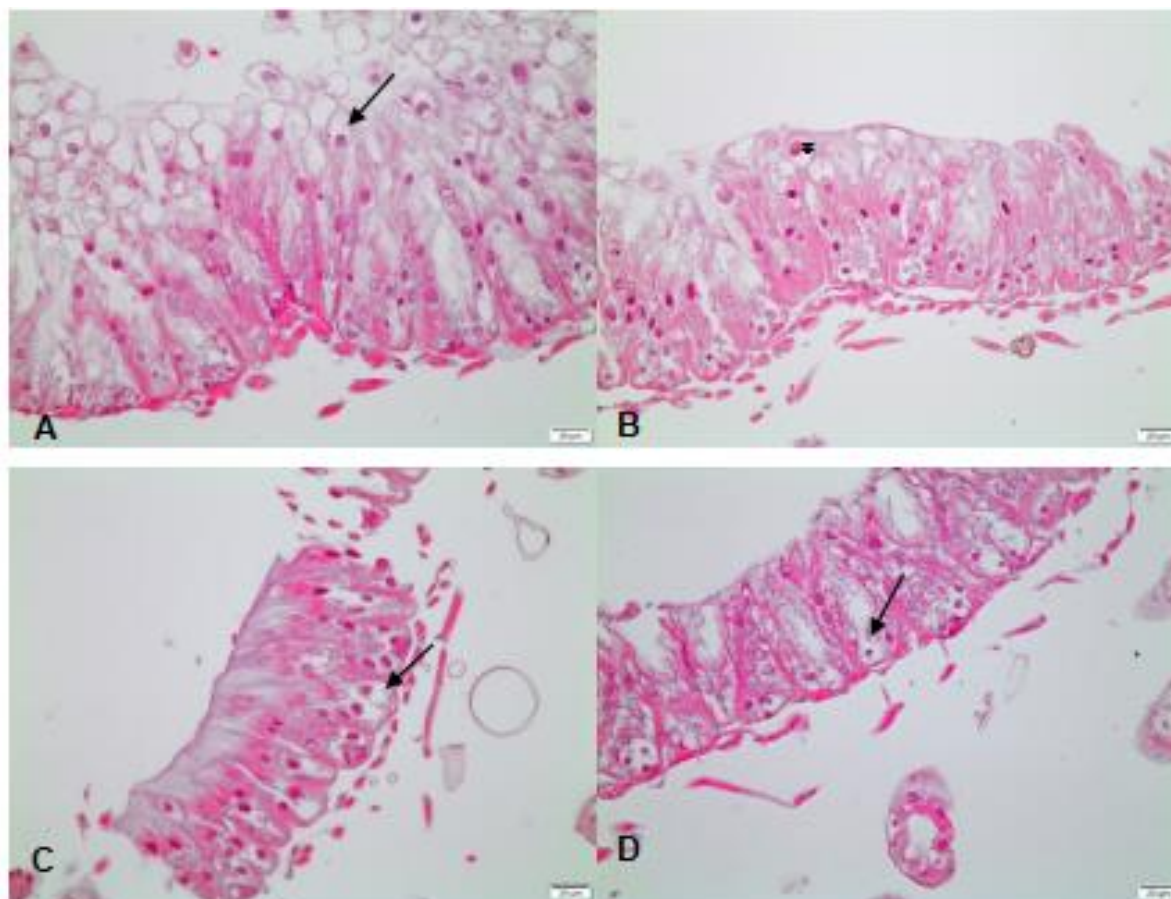
1812
1813

Figura 6 Alterações histológicas no intestino médio de *Apis mellifera* africanizada após 120 horas de exposição ao glifosato. Coloração: Hematoxilina-Eosina

1814
1815
1816
1817

Legenda: (A) Controle: células digestivas preservadas, com tumefação discreta e cromatina granular.
(B) Exposição a 50 µg/µL: cromatina granular nas células digestivas (asterisco).
(C) Exposição a 100 µg/µL: tumefação das células digestivas (seta).
(D) Exposição a 200 µg/µL: cromatina granular nas células regenerativas (seta)

1818

1819 Nas abelhas expostas a 100 µg/µL, a integridade estrutural do epitélio intestinal
1820 foi significativamente comprometida, com redução acentuada da espessura epitelial e
1821 acúmulo de material degenerativo no lúmen intestinal (Figura 6, painel C). A
1822 intensificação da atividade apoptótica indicou que a exposição prolongada agravou o
1823 dano celular. Os danos observados foram estatisticamente mais pronunciados do que
1824 os verificados em 96 horas (Tabela 1, $p < 0,05$).

1825 As alterações mais severas foram observadas no grupo tratado com 200 µg/µL
1826 após 120 horas, onde a destruição epitelial foi generalizada. A necrose tornou-se
1827 extensa, com desintegração completa das células epiteliais e desaparecimento quase
1828 total das microvilosidades (Figura 6, painel D). As células regenerativas apresentaram
1829 grave desorganização, indicando um comprometimento crítico dos mecanismos de
1830 recuperação tecidual. Essas alterações foram estatisticamente mais acentuadas do
1831 que aquelas observadas no grupo tratado por 96 horas (Tabela 1, $p < 0,01$).

1832 A progressão das alterações histopatológicas ao longo do tempo evidencia a
1833 toxicidade cumulativa e dose-dependente do glifosato. Períodos mais longos de
1834 exposição intensificaram os danos, especialmente nas concentrações mais elevadas,
1835 levando à deterioração irreversível da estrutura intestinal. Esses achados ressaltam o
1836 impacto potencial do glifosato sobre a capacidade digestiva de *A. mellifera*, com
1837 possíveis consequências para a absorção de nutrientes, o metabolismo e a saúde
1838 geral da colônia. As alterações observadas sugerem que a exposição prolongada e
1839 em altas doses ao glifosato pode comprometer severamente a integridade fisiológica
1840 das abelhas, reforçando preocupações sobre os efeitos subletais desse herbicida em
1841 polinizadores.

1842 11.2 TESTES ENZIMÁTICOS

1843 A análise da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD)
1844 e catalase (CAT) em *A. mellifera* expostas a diferentes concentrações de glifosato por
1845 96 e 120 horas revelou variações significativas, indicando uma resposta enzimática
1846 dependente da dose e do tempo de exposição.

Após 96 horas, a atividade da SOD não apresentou diferença significativa em relação ao controle no grupo exposto a 50 µg/µL de glifosato. No entanto, nas concentrações de 100 e 200 µg/µL, foi observado um aumento significativo da atividade enzimática em comparação ao grupo controle (Tabela 2, $p < 0,05$). A CAT, por sua vez, manteve valores semelhantes ao controle nos grupos expostos a 50 e 100 µg/µL, mas apresentou um aumento significativo na concentração de 200 µg/µL (Tabela 2, $p < 0,05$).

Tabela 2. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (µg/µL) em macerados de *Apis mellifera* expostas a diferentes concentrações de glifosato após 96 horas de ensaio.

	Controle- 96 horas	50 µg/µL (96 horas)	100 µg/µL (96 horas)	200 µg/µL (96 horas)	<i>p</i> -valor
SOD(µg/µL)	0,81±0 ^a	0,70±0 ^a	1,27±0,0004 ^b	1,38±0,0006 ^b	<0.05
CAT(µg/µL)	0,75±0,001 ^a	0,70±0,001 ^a	0,64±0,001 ^a	1,27±0,0008 ^b	<0.05

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais indicam ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e o grupo controle, enquanto letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre o grupo controle e os grupos tratados no tempo de 96 horas, conforme análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).

No tempo de 120 horas, a atividade da SOD permaneceu reduzida na concentração de 50 µg/µL, enquanto nos grupos expostos a 100 e 200 µg/µL, os níveis continuaram significativamente elevados em relação ao controle (Tabela 2, $p < 0,05$). Já a CAT apresentou um aumento significativo em todas as concentrações testadas quando comparada ao grupo controle, sendo esse efeito mais pronunciado na concentração de 200 µg/µL (Tabela 2, $p < 0,01$).

Tabela 3. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (µg/µL) em macerados de *Apis mellifera* expostas a diferentes concentrações de glifosato após 120 horas de ensaio.

	Controle (120 horas)	50 µg/µL (120 horas)	100 µg/µL (120 horas)	200 µg/µL (120 horas)	<i>p</i> -valor
SOD(µg/µL)	0,76±0 ^a	0,65±0 ^a	1,33±0 ^b	1,44±0, ^b	<0,05
CAT(µg/µL)	1,32±0 ^a	1,38±0 ^a	1,43±0 ^a	1,45±0, ^a	<0,05

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras iguais indicam ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e o grupo controle, enquanto letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre o grupo controle e os grupos tratados no tempo de 120 horas, conforme análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os dados indicam que a atividade das enzimas antioxidantes foi alterada em resposta à exposição ao glifosato, com diferenças nos tempos experimentais analisados. A SOD apresentou elevação mais precoce nas concentrações de 100 e

1876 200 µg/µL, enquanto a CAT demonstrou um aumento mais acentuado no tempo de
1877 120 horas, particularmente na maior concentração testada.

1878 11.3 ENSAIO DO COMETA

1879 Os resultados obtidos a partir do teste do ensaio do cometa das abelhas
1880 intoxicadas em diferentes concentrações de glifosato experimentalmente, nos tempos
1881 de 96 e 120 horas, quando comparadas ao grupo controle podem ser observadas nas
1882 Tabelas 6 e 7.

1883 **Tabela 4.** Avaliação da fragmentação do DNA pelo ensaio do cometa em macerados de *Apis mellifera*
1884 expostas a diferentes concentrações de glifosato após 96 horas de ensaio.

			Controle Média (± DP)	50 µg/µL (96 horas)	100 µg/µL (96 horas)	200 µg/µL (96 horas)	p-valor
(%)	DNA	na	49,05±2,12 ^a	76,03±4,43 ^b	83,76±2,37 ^b	91,02±4,03 ^b	>0,01
	cauda						
	Comprimento do		29,72±4,0 ^a	24,81±4,83 ^a	29,54±7,04 ^a	28,18±6,07 ^a	>0,3
	cometa (µm)						

1885 Os valores são apresentados como média ± desvio padrão (DP). Letras iguais indicam ausência de
1886 diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e o grupo controle, enquanto letras
1887 diferentes indicam diferença estatística significativa entre o grupo controle e os grupos tratados no
1888 tempo de 96 horas, conforme análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).
1889

1890 O ensaio do cometa realizado para avaliar os efeitos das concentrações 50,100
1891 e 200 µg/µL no tempo de 96 horas identificou aumento na porcentagem de DNA na
1892 cauda das células danificadas ($p > 0,01$), porém sem o aumento no comprimento dos
1893 cometas ($p < 0,3$).
1894

1895 **Tabela 5.** Avaliação da fragmentação do DNA pelo ensaio do cometa em macerados de *Apis mellifera*
1896 expostas a diferentes concentrações de glifosato após 120 horas de ensaio

			Controle Média (± DP)	50 µg/µL (120 horas)	100 µg/µL (120 horas)	200 µg/µL (120horas)	p-valor
(%)	DNA	na	45,95±9,21 ^a	44,77±9,57 ^a	48,01±10 ^a	49,74±8,04 ^a	<0,5
	cauda						
	Comprimento do		29,63±5,60 ^a	28,63±2,76 ^a	27,90±2,62 ^a	27,90±4,72 ^a	<0,7
	cometa						

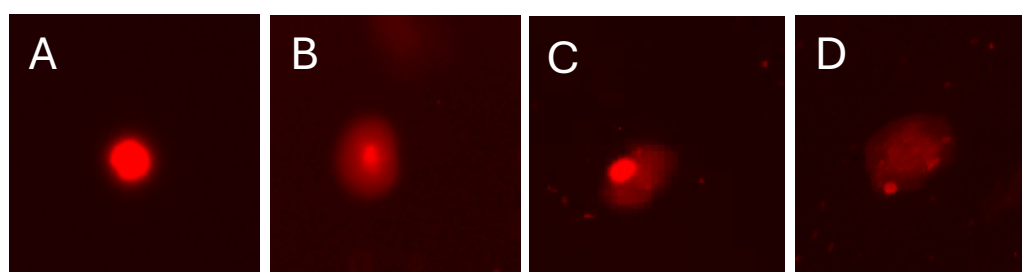
1897 Os valores são apresentados como média ± desvio padrão (DP). Letras iguais indicam ausência de
1898 diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e o grupo controle, enquanto letras
1899 diferentes indicam diferença estatística significativa entre o grupo controle e os grupos tratados no
1900 tempo de 96 horas, conforme análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).
1901

1902 Para análise dos efeitos das concentrações 50,100 e 200 µg/µL no tempo de
1903 120 horas não foi possível verificar nenhum resultado significativo na porcentagem de

1904 DNA na cauda das células danificadas ($p>0,5$), sem o aumento no comprimento dos
1905 cometas ($p<0,7$).

1906 As imagens apresentadas na Figura 12 ilustram a progressão do dano ao DNA
1907 nas células de *A. mellifera*. A análise morfológica confirma que as células do grupo
1908 controle apresentaram baixa migração de material genético, enquanto nos grupos
1909 expostos ao glifosato, observou-se um aumento progressivo na intensidade da
1910 fluorescência e na extensão da cauda do cometa, evidenciando o efeito do herbicida
1911 na indução de quebras no DNA.

1912



1913

1914 **Figura 7** Avaliação do dano ao DNA pelo ensaio do cometa em células de *A. mellifera* após 96 horas
1915 de exposição ao glifosato

1916 As imagens representam células do grupo controle e dos grupos tratados (A) com 50 (B), 100 (C) e
1917 200 (D) $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de glifosato. A progressão do dano ao DNA é evidenciada pelo aumento da migração
1918 do material genético em direção à cauda do cometa, indicando maior grau de fragmentação do DNA
1919 nas células expostas a concentrações mais elevadas do herbicida.

1920 12 DISCUSSÃO

1921 Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a exposição ao glifosato
1922 induziu alterações histopatológicas significativas no intestino médio de *A. mellifera*,
1923 além de desencadear um aumento na atividade das enzimas antioxidantes e danos
1924 ao DNA de maneira dose-tempo-dependente. Esses achados corroboram evidências
1925 crescentes sobre os impactos tóxicos de agrotóxicos em polinizadores e levantam
1926 preocupações sobre as consequências dessas exposições para a fisiologia das
1927 abelhas e a estabilidade das colônias ((Balbuena et al., 2015; Zaluski et al., 2015)).

1928 As análises histológicas evidenciaram um agravamento progressivo dos danos
1929 epiteliais conforme a concentração do herbicida aumentava e o tempo de exposição
1930 se prolongava. Nos grupos tratados com 100 e 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de glifosato, observou-se
1931 um acúmulo de vacuolização citoplasmática, desorganização tecidual, redução da

altura das microvilosidades e, nos casos mais severos, necrose celular. Essas características sugerem que a exposição ao herbicida compromete a integridade do epitélio intestinal, possivelmente afetando a absorção de nutrientes e a homeostase digestiva. Achados semelhantes foram reportados por (Motta & Moran, 2023), que demonstraram que o glifosato pode alterar a microbiota intestinal das abelhas e induzir um processo inflamatório crônico, contribuindo para disfunções fisiológicas. Além disso, Gregorc & Sampson, (2019) sugerem que tais danos podem predispor as abelhas a infecções oportunistas, aumentando sua vulnerabilidade a patógenos.

A resposta antioxidante foi evidenciada pelo aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) nas abelhas expostas a concentrações mais elevadas de glifosato, especialmente no tempo de 120 horas. Esses achados indicam um estresse oxidativo significativo, uma vez que essas enzimas atuam na defesa contra espécies reativas de oxigênio (EROs) geradas por toxinas ambientais (Martins et al., 2021). O aumento precoce da atividade da SOD nas concentrações de 100 e 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ está de acordo com estudos que demonstram que essa enzima é ativada rapidamente para neutralizar o radical superóxido e convertê-lo em peróxido de hidrogênio (Fridovich, 1997; Martins et al., 2021; A elevação tardia da CAT, mais evidente no tempo de 120 horas, sugere uma ativação compensatória para eliminar o peróxido de hidrogênio gerado na primeira etapa do metabolismo antioxidante, um padrão semelhante ao descrito por Zhang et al., (2024) em estudos sobre o impacto de pesticidas em insetos. No entanto, é importante considerar que o aumento na atividade dessas enzimas pode ser insuficiente para mitigar completamente os danos oxidativos, especialmente sob exposições prolongadas, levando a uma disfunção celular progressiva.

A avaliação do dano ao DNA por meio do ensaio do cometa revelou uma fragmentação significativa do material genético nas abelhas expostas ao glifosato, especialmente no tempo de 96 horas. A porcentagem de DNA na cauda das células danificadas aumentou proporcionalmente à concentração do herbicida, sugerindo um efeito genotóxico claro. Esses achados são compatíveis com estudos que demonstram que o glifosato pode causar quebras na fita de DNA, afetando a estabilidade genômica e aumentando o risco de apoptose celular (Koller et al., 2012; Mesnage et al., 2015). Curiosamente, no tempo de 120 horas, os níveis de

1964 fragmentação do DNA foram menores, sem diferenças estatisticamente significativas
1965 entre os grupos tratados e o controle. Esse resultado pode indicar que as células
1966 severamente danificadas foram eliminadas por apoptose ou que mecanismos de
1967 reparo do DNA foram ativados. Trabalhos prévios sugerem que, em organismos
1968 expostos a agentes genotóxicos, há uma ativação de vias de reparo para tentar
1969 restaurar a integridade do material genético, o que pode justificar a redução da
1970 fragmentação do DNA ao longo do tempo ((Abdalla & Da Costa Domingues, 2015; Dicks
1971 et al., 2023)

1972 Apesar dos achados consistentes, algumas limitações metodológicas devem
1973 ser consideradas. Embora as abelhas tenham sido mantidas em condições
1974 controladas no laboratório, essas condições não representam totalmente a
1975 complexidade ambiental encontrada no campo, onde as abelhas estão expostas a
1976 uma combinação de diferentes pesticidas, poluentes e fatores de estresse (Goulson
1977 et al., 2015). No ambiente natural, a exposição a múltiplos xenobióticos pode resultar
1978 em efeitos sinérgicos ou antagonistas, o que limita a extrapolação direta dos
1979 resultados laboratoriais para situações de campo. Além disso, as abelhas podem ser
1980 expostas ao glifosato em diferentes momentos e por diferentes vias (contato direto
1981 com plantas tratadas ou consumo de néctar contaminado), o que pode influenciar a
1982 magnitude dos danos observados (Derecka et al., 2013).

1983 Outro ponto importante é o fato de que os dados foram obtidos de um único
1984 apiário, o que limita a generalização dos resultados para outras populações de
1985 abelhas em diferentes regiões geográficas. A composição genética das colônias, bem
1986 como as condições ambientais específicas, pode influenciar a resposta das abelhas
1987 ao glifosato, gerando variações nos resultados (Brittain & Potts, 2011) Estudos futuros
1988 devem incluir colônias de diferentes localidades para validar os achados e garantir
1989 que os resultados sejam representativos de uma ampla diversidade populacional.

1990 As consequências ecológicas dos danos observados são preocupantes, uma
1991 vez que a integridade do DNA é essencial para a divisão celular, regeneração tecidual
1992 e função imunológica das abelhas (De Souza, 2024). A presença de necrose e
1993 desorganização no tecido intestinal sugere que o glifosato pode comprometer a
1994 absorção de nutrientes, afetando o metabolismo e a sobrevivência das abelhas. Além
1995 disso, a fragmentação do DNA pode comprometer a longevidade e a capacidade de

1996 reprodução das operárias e da rainha, o que tem implicações diretas para a saúde e
1997 continuidade da colônia (LUNARDI, 2022)

1998 Esses danos podem ter um impacto significativo na capacidade das abelhas de
1999 realizar a polinização, um serviço essencial tanto para a manutenção da
2000 biodiversidade quanto para a produtividade agrícola. Estudos indicam que a exposição
2001 a pesticidas pode reduzir o comportamento de forrageamento e a eficiência da
2002 polinização (Garibaldi et al., 2013). No contexto brasileiro, onde culturas de alto valor,
2003 como café, soja e frutas, dependem da polinização por abelhas, o comprometimento
2004 das colônias pode resultar em perdas econômicas significativas. Assim, os resultados
2005 deste estudo reforçam a necessidade de revisões regulatórias sobre o uso de
2006 herbicidas e outras substâncias químicas na agricultura, visando à preservação dos
2007 polinizadores e dos serviços ecossistêmicos que eles proporcionam (IBAMA, 2017).

2008 Em síntese, este trabalho confirma o potencial genotóxico e o efeito de estresse
2009 oxidativo do glifosato em abelhas *A. mellifera* e destaca a importância de considerar
2010 a complexidade das interações ambientais ao avaliar os riscos associados ao uso de
2011 herbicidas. Estudos futuros devem focar na validação dos resultados em condições
2012 de campo, envolvendo diferentes populações de abelhas e uma combinação de
2013 pesticidas para entender melhor o impacto real do glifosato na apicultura e na
2014 polinização agrícola (Antunes et al., 2023).

2015 A preservação das populações de abelhas é essencial para garantir a
2016 sustentabilidade dos sistemas agrícolas e a segurança alimentar, especialmente em
2017 países como o Brasil, onde diversas culturas dependem diretamente da polinização
2018 por abelhas (Klein et al., 2017). Assim, este estudo reforça a necessidade de políticas
2019 públicas mais integradas que considerem não apenas a produtividade agrícola, mas
2020 também a proteção dos polinizadores e dos serviços ecossistêmicos que eles
2021 prestam. A implementação de zonas de proteção para polinizadores, o incentivo ao
2022 plantio de corredores ecológicos e a educação de agricultores sobre os riscos do uso
2023 indiscriminado de herbicidas são medidas recomendadas para mitigar os impactos
2024 negativos sobre as abelhas colônias (Balbuena et al., 2015).

2026

2027

2028

2029 **13 CONCLUSÃO**

2030 Este trabalho demonstram que o glifosato, mesmo em concentrações não
2031 letais, exerce efeitos genotóxicos significativos em abelhas *A. mellifera*, provocando
2032 quebras no DNA e alterações nas atividades das enzimas antioxidantes superóxido
2033 dismutase (SOD) e catalase. Além disso, as análises histopatológicas revelaram
2034 danos estruturais no tecido intestinal, sugerindo que a exposição ao herbicida pode
2035 comprometer a saúde e a funcionalidade das abelhas. Portanto, a adoção de medidas
2036 regulatórias e práticas agrícolas mais seguras é essencial para garantir a coexistência
2037 entre a produção agrícola e a conservação dos polinizadores, promovendo um modelo
2038 de desenvolvimento sustentável para as futuras gerações.

2039

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

2040

2041

2042 Abdalla, F. C., & Da Costa Domingues, C. E. (2015). Hepato-nephrocytic system: A
 2043 novel model of biomarkers for analysis of the ecology of stress in environmental
 2044 biomonitoring. *PLoS ONE*, 10(7), 1–9.
 2045 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132349>

2046 Alaux, C., Brunet, J., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Brillard,
 2047 J., Baldy, A., Belzunces, L. P., & Le Conte, Y. (2010). Interactions between
 2048 *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*).
 2049 *Environmental Microbiology*, 12(3), 774–782. [https://doi.org/10.1111/j.1462-](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x)
 2050 [2920.2009.02123.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x)

2051 Amarante Junior, O. P. de, Santos, T. C. R. dos, Brito, N. M., & Ribeiro, M. L. (2002).
 2052 Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, 25(4), 589–
 2053 593. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>

2054 Antunes, B. C., Ribeiro, L. G., Roque, A. M., Ferreira, K. M., Winkaler, E. U., & Lhano,
 2055 M. G. (2023). O herbicida glifosato pode interferir nas interações sociais de
 2056 abelhas *Apis mellifera* operárias? *Research, Society and Development*, 12(6),
 2057 e29412642439. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i6.42439>

2058 Arias, A. R. L., Buss, D. F., Alburquerque, C. D., Inácio, A. F., Freire, M. M., Egler, M.,
 2059 ... & Baptista, D. F. (2007). Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto
 2060 e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência*
 2061 *& Saúde Coletiva*, 12, 61-72.

2062 Arthidoro de Castro, M. B., Martinez, L. C., Cossolin, J. F. S., Serra, R. S., & Serrão,
 2063 J. E. (2020a). Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain
 2064 of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda-
 2065 cyhalothrin. *Chemosphere*, 248.
 2066 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126075>

2067 Arthidoro de Castro, M. B., Martinez, L. C., Cossolin, J. F. S., Serra, R. S., & Serrão,
 2068 J. E. (2020b). Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain
 2069 of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda-
 2070 cyhalothrin. *Chemosphere*, 248, 126075.
 2071 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126075>

2072 Avilez, I. M., Hori, T. S. F., de Almeida, L. C., Hackbarth, A., Neto, J. da C. B., Bastos,
 2073 V. L. F. da C., & Moraes, G. (2008). Effects of phenol in antioxidant metabolism in
 2074 matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). *Comparative Biochemistry*
 2075 *and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(2), 136–142.
 2076 <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.008>

2077 Azevedo, P., Cornélio, R., Nocelli, F., Diagramado, T., Dos, K., & Toledo, S. (2020).
 2078 Revisão da anatomia do sistema nervoso central de *Apis mellifera*: uma base
 2079 teórica para estudos ecotoxicológicos Review of *Apis mellifera* central nervous
 2080 system anatomy: a theoretical basis for ecotoxicological studies. *Revista da*
 2081 *Biologia*, 1, 10–20. <https://doi.org/10.7594/revbio.20.01.10>

2082 Bacandritsos, N., Granato, A., Budge, G., Papanastasiou, I., Roinioti, E., Caldon, M.,
 2083 Falcaro, C., Gallina, A., & Mutinelli, F. (2010). Sudden deaths and colony

- 2084 population decline in Greek honey bee colonies. *Journal of Invertebrate*
2085 *Pathology*, 105(3), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.08.004>
- 2086 Badiou-Bénéteau, A., Carvalho, S. M., Brunet, J. L., Carvalho, G. A., Buleté, A.,
2087 Giroud, B., & Belzunces, L. P. (2012). Development of biomarkers of exposure to
2088 xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide
2089 thiamethoxam. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 82, 22–31.
2090 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.05.005>
- 2091 Baily, A. C. D., Saitob, E., Carvalho, P. S. M., & Junqueira, V. B. C. (1996). Oxidative
2092 stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)
2093 from a polluted site. *Aquatic Toxicology*, 34, 151–162.
- 2094 Balbuena, M. S., Tison, L., Hahn, M. L., Greggers, U., Menzel, R., & Farina, W. M.
2095 (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal*
2096 *of Experimental Biology*, 218(17), 2799–2805. <https://doi.org/10.1242/jeb.117291>
- 2097 Barbosa, R. N., Bezerra, J. D. P., Souza-Motta, C. M., Frisvad, J. C., Samson, R. A.,
2098 Oliveira, N. T., & Houbraken, J. (2018). New *Penicillium* and *Talaromyces* species
2099 from honey, pollen and nests of stingless bees. *Antonie van Leeuwenhoek*,
2100 *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(10), 1883–1912.
2101 <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1081-1>
- 2102 Bargańska, Ż., Ślebioda, M., & Namieśnik, J. (2016). Honey bees and their products:
2103 Bioindicators of environmental contamination. *Critical Reviews in Environmental*
2104 *Science and Technology*, 46(3), 235–248.
2105 <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1078220>
- 2106 Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., & David, J. P. (2006a). Estresse oxidativo: relação
2107 entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. In *Quim. Nova* (Vol.
2108 29, Issue 1).
- 2109 Battisti, L., Potrich, M., Sampaio, A. R., de Castilhos Ghisi, N., Costa-Maia, F. M.,
2110 Abati, R., dos Reis Martinez, C. B., & Sofia, S. H. (2021). Is glyphosate toxic to
2111 bees? A meta-analytical review. *Science of the Total Environment*, 767.
2112 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145397>
- 2113 Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and
2114 globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1–15.
2115 <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
- 2116 Beringer, J. S., & Maciel, F. L. T. F. F. (2019). O declínio populacional das abelhas:
2117 causas, potenciais soluções e perspectivas futuras. *Rev. Elet. Cient. Da UERGS*,
2118 1, 19. <https://doi.org/10.21674/2448-0479.51.17-26>
- 2119 Bertin, G., & Averbeck, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications
2120 of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences
2121 (a review). *Biochimie*, 88(11), 1549–1559.
2122 <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.10.001>
- 2123 Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3–8.
2124 [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- 2125 Bocchetti, R., Fattorini, D., Pisanelli, B., Macchia, S., Oliviero, L., Pilato, F., Pellegrini,
2126 D., & Regoli, F. (2008). Contaminant accumulation and biomarker responses in
2127 caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to evaluate bioavailability and

- 2128 toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal
2129 operations in harbour areas. *Aquatic Toxicology*, 89(4), 257–266.
2130 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.011>
- 2131 Boily, M., Sarrasin, B., DeBlois, C., Aras, P., & Chagnon, M. (2013).
2132 Acetylcholinesterase in honey bees (*Apis mellifera*) exposed to neonicotinoids,
2133 atrazine and glyphosate: Laboratory and field experiments. *Environmental*
2134 *Science and Pollution Research*, 20(8), 5603–5614.
2135 <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1568-2>
- 2136 Botías, C., David, A., Hill, E. M., & Goulson, D. (2016). Contamination of wild plants
2137 near neonicotinoid seed-treated crops, and implications for non-target insects.
2138 *Science of the Total Environment*, 566–567, 269–278.
2139 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.065>
- 2140 Brandi Simonsen, Sarah Fairbanks, Amy Briesch, Diane Myers, & George Sugai.
2141 (2008). Evidence-based Practices in Classroom Management: Considerations for
2142 Research to Practice. *Education and Treatment of Children*, 31(1), 351–380.
2143 <https://doi.org/10.1353/etc.0.0007>
- 2144 BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA.
2145 (2020). Instrução normativa - in nº 75. *DOU No195, de 9 de Outubro de 2020*.
- 2146 Brittain, C., & Potts, S. G. (2011). The potential impacts of insecticides on the life-
2147 history traits of bees and the consequences for pollination. In *Basic and Applied*
2148 *Ecology* (Vol. 12, Issue 4, pp. 321–331).
2149 <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.12.004>
- 2150 Brown, C., Kovacs, E. K., Zinngrebe, Y., Albizua, A., Galanaki, A., Grammatikopoulou,
2151 I., Herzon, I., Marquardt, D., Mccracken, D., Olsson, J., & Villamayor-Tomas, S.
2152 (2020). *Understanding farmer uptake of measures that support biodiversity and*
2153 *ecosystem services in the Common Agricultural Policy (CAP) An EKLIPSE Expert*
2154 *Working Group report*. eklipse- understanding farmer uptake of biodiversity
2155 measures in the cap.
- 2156 Brown, M. J. F., & Paxton, R. J. (2009). The conservation of bees: a global perspective.
2157 *Apidologie*, 40(3), 410–416. <https://doi.org/10.1051/apido/2009019>
- 2158 Bucker, A., Carvalho, W., & Alves-Gomes, A. (2006). Avaliação da mutagênese e
2159 genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos
2160 ao benzeno. *Acta Amazonica*, 36(3), 357–364.
- 2161 C.T. SILVA; M.G. JASIULIONIS. (2014). SILVA, . *Relação entre estresse oxidativo,*
2162 *alterações epigenéticas e câncer, 2014*.
- 2163 Caccia, S., Casartelli, M., & Tettamanti, G. (2019). The amazing complexity of insect
2164 midgut cells: types, peculiarities, and functions. In *Cell and Tissue Research* (Vol.
2165 377, Issue 3, pp. 505–525). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03076-w>
- 2167 Carneiro, L. S., Martínez, L. C., Gonçalves, W. G., Santana, L. M., & Serrão, J. E.
2168 (2020a). The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis*
2169 *mellifera* workers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 109991.
2170 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109991>

- 2171 Carneiro, L. S., Martínez, L. C., Gonçalves, W. G., Santana, L. M., & Serrão, J. E.
2172 (2020b). The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis*
2173 *mellifera* workers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189, 109991.
2174 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109991>
- 2175 Cattani, D., de Liz Oliveira Cavalli, V. L., Heinz Rieg, C. E., Domingues, J. T., Dal-Cim,
2176 T., Tasca, C. I., Mena Barreto Silva, F. R., & Zamoner, A. (2014). Mechanisms
2177 underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature
2178 rat hippocampus: Involvement of glutamate excitotoxicity. *Toxicology*, 320(1), 34–
2179 45. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.03.001>
- 2180 Cavalcanto Neto. H.C; TROVÃO. L.C.S; BRITO, C. R. GODOY. A. M. (2025). The right
2181 to a healthy environment at risk: use of pesticides in brazilian crops, high
2182 productivity and bee extermination. *REVISTA ARACÊ*, 1.
2183 <https://doi.org/https://doi.org/10.56238/arev7n1-216>
- 2184 Celli, G., & Maccagnani, B. (2003). Honey bees as bioindicators of environmental
2185 pollution. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 137–139.
- 2186 Ceschi-Bertoli, L., Vidal, F. A. P., Balsamo, P. J., & Abdalla, F. C. (2020). Comet assay
2187 protocol for *Bombus atratus* fat body and pericardial cells (Hymenoptera, bombini)
2188 at a safe concentration of mercury. *Chemosphere*, 261.
2189 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127752>
- 2190 Cléssia Vieira Belchior, D., de Souza Saraiva, A., Maria Córdova López, A., & Newton
2191 Scheidt, G. (2017). *Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde*
2192 *humana* (Issue 1).
- 2193 Costa, C. C. A. O. F. L. (2013). Polinização: serviços ecossistêmicos e o seu uso na
2194 agricultura. *REVISTA VERDE DE AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO*
2195 *SUSTENTÁVEL*, 8, 1–10.
- 2196 Cox, C. (1995). Glyphosate Fact Sheets: Part 1 and Part 2 Glyphosate, Part 1:
2197 Toxicology. In *Journal of Pesticide Reform* (Vol. 15, Issue 3).
- 2198 da Costa Domingues, C. E., Bello Inoue, L. V., da Silva-Zacarin, E. C. M., & Malaspina,
2199 O. (2020). Fungicide pyraclostrobin affects midgut morphophysiology and reduces
2200 survival of Brazilian native stingless bee *Melipona scutellaris*. *Ecotoxicology and*
2201 *Environmental Safety*, 206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111395>
- 2202 da cruz-landim, C., & Rodrigues, L. (1967). Comparative anatomy and histology of the
2203 alimentary canal of adult apinae. *Journal of Apicultural Research*, 6(1), 17–28.
2204 <https://doi.org/10.1080/00218839.1967.11100156>
- 2205 da Silva, H. p. , de O. R. C. , V. P. C. e F. I. M. (2020). *CIÊNCIAS AMBIENTAIS*
2206 (Sarginha. D. S. Zaitune. P. A. Hayashi. C, Ed.; 1st ed.).
- 2207 Daily, G. C. ., & Ellison, Katherine. (2002). *The new economy of nature : the quest to*
2208 *make conservation profitable*. Island Press : Shearwater Books.
- 2209 Davoren, M. J., & Schiestl, R. H. (2018). Glyphosate-based herbicides and cancer risk:
2210 a post-IARC decision review of potential mechanisms, policy and avenues of
2211 research. *Carcinogenesis*, 39(10), 1207–1215.
2212 <https://doi.org/10.1093/carcin/bgy105>
- 2213 de MORAES, R. F. (2019). *Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da*
2214 *regulação e prevenção da captura regulatória* (No. 2506).

- 2215 de Souza, A. P. F., Rodrigues, N. R., & Reyes, F. G. R. (2021). Glyphosate and
 2216 aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in Brazilian honey. *Food Additives*
 2217 *and Contaminants: Part B Surveillance*, 14(1), 40–47.
 2218 <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1855676>
- 2219 Derecka, K., Blythe, M. J., Malla, S., Genereux, D. P., Guffanti, A., Pavan, P., Moles,
 2220 A., Snart, C., Ryder, T., Ortori, C. A., Barrett, D. A., Schuster, E., & Stöger, R.
 2221 (2013). Transient Exposure to Low Levels of Insecticide Affects Metabolic
 2222 Networks of Honeybee Larvae. *PLoS ONE*, 8(7).
 2223 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068191>
- 2224 Dicks, K. L., Ball, A. D., Banfield, L., Barrios, V., Boufaroua, M., Chetoui, A., Chuven,
 2225 J., Craig, M., Faeer, M. Y. Al, Garba, H. H. M., Guedara, H., Harouna, A., Ivy, J.,
 2226 Najjar, C., Petretto, M., Pusey, R., Rabeil, T., Riordan, P., Senn, H. V., ... Gilbert,
 2227 T. (2023). Genetic diversity in global populations of the critically endangered
 2228 addax (*Addax nasomaculatus*) and its implications for conservation. *Evolutionary*
 2229 *Applications*, 16(1), 111–125. <https://doi.org/10.1111/eva.13515>
- 2230 Duke, S. O., & Powles, S. B. (2008). Glyphosate: A once-in-a-century herbicide. *Pest*
 2231 *Management Science*, 64(4), 319–325. <https://doi.org/10.1002/ps.1518>
- 2232 Ferreira da Silva Neto, I., Silva Duarte, M. B., Dias Fernandes Canuto, M. A., & Moreira
 2233 Aguiar, A. (2021). Uma breve revisão sobre a utilização de abelhas como
 2234 bioindicadores de contaminação ambiental: Ênfase na *Apis mellifera* L. *Revista*
 2235 *Semiárido De Visu*, 9(3), 204–210. <https://doi.org/10.31416/rsdv.v9i3.12>
- 2236 Ferreira, H. C. (2023). *Caracterização de microplásticos em águas da Bacia de Santos*
 2237 *e da Baía da Ilha Grande e em esponjas marinhas da espécie Dragmacidon*
 2238 *reticulatum* (Ridley & Dendy, 1886).
- 2239 Foguel. I. (2019). *O mundo das abelhas* (Clube de autores).
- 2240 Freitas, B. M., Imperatriz-Fonseca, V. L., Medina, L. M., Kleinert, A. D. M. P., Galetto,
 2241 L., Nates-Parra, G., & Javier, J. (2009). Diversity, threats and conservation of
 2242 native bees in the Neotropics. In *Apidologie* (Vol. 40, Issue 3, pp. 332–346).
 2243 <https://doi.org/10.1051/apido/2009012>
- 2244 Fridovich, I. (1997). Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and
 2245 related matters. In *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 272, Issue 30, pp. 18515–
 2246 18517). <https://doi.org/10.1074/jbc.272.30.18515>
- 2247 Gaboardi, S. C., Candiottto, L. Z. P., & Panis, C. (2023). Agribusiness in Brazil and its
 2248 dependence on the use of pesticides. In *Hygiene and Environmental Health*
 2249 *Advances* (Vol. 8). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.heha.2023.100080>
- 2250 Garcia. E.G; Bussacos.M.A; Fischer. F.M. (2005). Impacto da legislação no registro
 2251 de agrotóxicos de maior toxicidade no Brasil Impact of legislation on registration
 2252 of acutely toxic pesticides in Brazil. *Rev Saúde Pública*, 5, 832.
- 2253 Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R.,
 2254 Cunningham, S. A., Kremen, C., Carvalheiro, L. G., Harder, L. D., Afik, O.,
 2255 Bartomeus, I., Benjamin, F., Boreux, V., Cariveau, D., Chacoff, N. P.,
 2256 Dudenhöffer, J. H., Freitas, B. M., Ghazoul, J., Greenleaf, S., ... Klein, A. M.
 2257 (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee
 2258 abundance. *Science*, 340(6127), 1608–1611.
 2259 <https://doi.org/10.1126/science.1230200>

- Giannini, T. C., Boff, S., Cordeiro, G. D., Cartolano, E. A., Veiga, A. K., Imperatriz-Fonseca, V. L., & Saraiva, A. M. (2015). Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie*, 46(2), 209–223. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0316-z>
- Giesy, J. P., Dobson, S., & Solomon, K. R. (2000). *Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup® Herbicide*.
- Gomes Wendling, G., & Caporusso Bargas, D. (2023). Análise dos altos números de concessões de registro à agrotóxicos de 2017 à 2022 no brasil e suas possíveis consequências. *Boletim Paulista de Geografia*, 1(110), 7–31. <https://doi.org/10.61636/bpg.v1i110.2963>
- Gontijo, A. M. M. C., & Tice, R. (2003). Teste do cometa para a detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas. *Mutagênese ambiental. Canoas: Ulbra*, 173-200.
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. In *Science* (Vol. 347, Issue 6229). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Graf, P., & Mandler, G. (1984). Activation Makes Words More Accessible, but Not Necessarily More Retrievable. In *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior* (Vol. 23).
- Gregorc, A., & Sampson, B. (2019). Diagnosis of Varroa Mite (*Varroa destructor*) and Sustainable Control in Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies—A Review. *Diversity*, 11(12), 243. <https://doi.org/10.3390/d11120243>
- Häder, D.-P., Richter, P. R., Schuster, M., Daiker, V., & Lebert, M. (2009). Molecular analysis of the graviperception signal transduction in the flagellate *Euglena gracilis*: Involvement of a transient receptor potential-like channel and a calmodulin. *Advances in Space Research*, 43(8), 1179–1184. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2009.01.029>
- Harrison, J., Megin, B., Sarah, C.-L., Fiarman, E., Jones, A., Kalejs, E., Susan, Q., & Johnson, M. (2005). *Cracking the Mold: How Second-Stage Teachers Experience their Differentiated Roles*.
- Heap, I. (2014). Global perspective of herbicide-resistant weeds. *Pest Management Science*, 70(9), 1306–1315. <https://doi.org/10.1002/ps.3696>
- Helmer, S. H., Kerbaol, A., Aras, P., Jumarie, C., & Boily, M. (2015). Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8010–8021. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2879-7>
- Herbert, L. T., Vázquez, D. E., Arenas, A., & Farina, W. M. (2014). Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *Journal of Experimental Biology*, 217(19), 3457–3464. <https://doi.org/10.1242/jeb.109520>
- Hofmann, M. M., Fleischmann, A., & Renner, S. S. (2020). Foraging distances in six species of solitary bees with body lengths of 6 to 15 mm, inferred from individual

- 2303 tagging, suggest 150 m-rule-of-thumb for flower strip distances. *Journal of*
 2304 *Hymenoptera Research*, 77, 105–117. <https://doi.org/10.3897/jhr.77.51182>
- 2305 Ivanina, A. V., Cherkasov, A. S., & Sokolova, I. M. (2008). Effects of cadmium on
 2306 cellular protein and glutathione synthesis and expression of stress proteins in
 2307 eastern oysters, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Journal of Experimental Biology*,
 2308 211(4), 577–586. <https://doi.org/10.1242/jeb.011262>
- 2309 Jaffé, R., Pope, N., Carvalho, A. T., Maia, U. M., Blochtein, B., Lopes De Carvalho, C.
 2310 A., Carvalho-Zilse, G. A., Freitas, B. M., Menezes, C., De Ribeiro, M. F., Venturieri,
 2311 G. C., & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2015). Bees for development: Brazilian survey
 2312 reveals how to optimize stingless beekeeping. *PLoS ONE*, 10(3).
 2313 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121157>
- 2314 Jha, A. N. (2008). Ecotoxicological applications and significance of the comet assay.
 2315 *Mutagenesis*, 23(3), 207–221. <https://doi.org/10.1093/mutage/gen014>
- 2316 Kammann, U., Biselli, S., Hühnerfuss, H., Reineke, N., Theobald, N., Vobach, M., &
 2317 Wosniok, W. (2004). Genotoxic and teratogenic potential of marine sediment
 2318 extracts investigated with comet assay and zebrafish test. *Environmental*
 2319 *Pollution*, 132(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.04.021>
- 2320 Kearns, C. A., Inouye, D. W., & Waser, N. M. (1998). Endangered Mutualism: The
 2321 Conservation of Plant-Pollinator Interactions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 83–112.
 2322 [https://doi.org/10.1006/0066-4162\(98\)1120-0083\\$08.00](https://doi.org/10.1006/0066-4162(98)1120-0083$08.00)
- 2323 Klein, A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A.,
 2324 Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing
 2325 landscapes for world crops. In *Proceedings of the Royal Society B: Biological*
 2326 *Sciences* (Vol. 274, Issue 1608, pp. 303–313). Royal Society.
 2327 <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- 2328 Klein, S., Cabirol, A., Devaud, J. M., Barron, A. B., & Lihoreau, M. (2017). Why Bees
 2329 Are So Vulnerable to Environmental Stressors. In *Trends in Ecology and Evolution*
 2330 (Vol. 32, Issue 4, pp. 268–278). Elsevier Ltd.
 2331 <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.12.009>
- 2332 Koller, V. J., Fürhacker, M., Nersesyan, A., Mišík, M., Eisenbauer, M., & Knasmueller,
 2333 S. (2012). Cytotoxic and DNA-damaging properties of glyphosate and Roundup in
 2334 human-derived buccal epithelial cells. *Archives of Toxicology*, 86(5), 805–813.
 2335 <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0804-8>
- 2336 Kremen, C. (2005). Managing ecosystem services: What do we need to know about
 2337 their ecology? In *Ecology Letters* (Vol. 8, Issue 5, pp. 468–479).
 2338 <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00751.x>
- 2339 Kumaravel, T. S., Brabu, B., Parthiban, N., Murugan, S. S., & Jha, A. N. (2021). ‘Site
 2340 of contact genotoxicity’ assessment for implants - Potential use of single cell gel
 2341 electrophoresis in biocompatibility testing of medical devices. *Toxicology Letters*,
 2342 341, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.01.024>
- 2343 Lechinovski, L. (2023). *Avaliação dos efeitos toxicológicos de micropartículas*
 2344 *provenientes de máscaras descartáveis no organismo-teste Oreochromis*
 2345 *niloticus* (Master's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

- 2346 Lee, R. F., & Steinert, S. (2003). Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay
2347 for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutation*
2348 *Research/Reviews in Mutation Research*, 544(1), 43–64.
2349 [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(03\)00017-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00017-6)
- 2350 Leite, L. C. O. F., Pereira, R. de O., & Silva, J. B. G. (2023). Ferramenta para a
2351 priorização do monitoramento de agrotóxicos em mananciais hídricos. *Revista*
2352 *Em Agronegócio e Meio Ambiente*, 16(2), 1–24. [https://doi.org/10.17765/2176-](https://doi.org/10.17765/2176-9168.2023v16n2e9968)
2353 [9168.2023v16n2e9968](https://doi.org/10.17765/2176-9168.2023v16n2e9968)
- 2354 Leonhardt, S. D., Gallai, N., Garibaldi, L. A., Kuhlmann, M., & Klein, A. M. (2013).
2355 Economic gain, stability of pollination and bee diversity decrease from southern to
2356 northern Europe. *Basic and Applied Ecology*, 14(6), 461–471.
2357 <https://doi.org/10.1016/j.baae.2013.06.003>
- 2358 Lima-Junior, D. P., Lima, L. B., Carnicer, C., Zanella, R., Prestes, O. D., Floriano, L.,
2359 & De Marco Júnior, P. (2024). Exploring the relationship between land-use and
2360 pesticides in freshwater ecosystem: A case study of the Araguaia River Basin,
2361 Brazil. *Environmental Advances*, 15.
2362 <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2024.100497>
- 2363 Łopieńska-Biernat, E., Sokół, R., Michalczyk, M., Żółtowska, K., & Stryński, R. (2017).
2364 Estado bioquímico de las abejas silvestres ferales (*Apis mellifera*) infestadas con
2365 diversos patógenos. *Journal of Apicultural Research*, 56(5), 606–615.
2366 <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1343020>
- 2367 Luiz De Oliveira, M., & Cunha, J. A. (2005). *Abelhas africanizadas Apis mellifera*
2368 *scutellata Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na*
2369 *floresta amazônica? Do Africanized honeybees explore resources in the*
2370 *Amazonian forest?*
- 2371 Lunardi, J. S. (2022). *Efeito de herbicidas no comportamento e morfologia de abelhas*
2372 *Apis mellifera L. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA*
2373 *FILHO.”*
- 2374 Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. In
2375 *Aquatic Toxicology* (Vol. 101, Issue 1, pp. 13–30).
2376 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- 2377 Magalhães, D. P., & FEerrão Filho, O. A. S. (2008). A ecotoxicologia como ferramenta
2378 no biomonitoramento De ecossistemas aquáticos. In *Oecol. Bras* (Vol. 12, Issue
2379 3).
- 2380 Martins, A. W. S., Silveira, T. L. R., Remião, M. H., Domingues, W. B., Dellagostin, E.
2381 N., Junior, A. S. V., Corcini, C. D., Costa, Pa. G., Bianchini, A., Somoza, G. M.,
2382 Robaldo, R. B., & Campos, V. F. (2021). Acute exposition to Roundup Transorb®
2383 induces systemic oxidative stress and alterations in the expression of newly
2384 sequenced genes in silverside fish (*Odontesthes humensis*). *Environmental*
2385 *Science and Pollution Research*, 28(46), 65127–65139.
2386 <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15239-w>
- 2387 Martins, C. C. C., Waldschmidt, A. M., & Costa, M. A. (2014). Unprecedented record
2388 of ten novel B chromosomes in the stingless bee *Partamona helleri* (Apidae,
2389 Meliponini). *Apidologie*, 45(4), 431–439. [https://doi.org/10.1007/s13592-013-](https://doi.org/10.1007/s13592-013-0257-y)
2390 [0257-y](https://doi.org/10.1007/s13592-013-0257-y)

- 2391 Mesnage, R., Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J., & Séralini, G. E. (2015). Potential
2392 toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits.
2393 *Food and Chemical Toxicology*, 84, 133–153.
2394 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.08.012>
- 2395 Møller, P. (2006). The alkaline comet assay: Towards validation in biomonitoring of
2396 DNA damaging exposures. In *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*
2397 (Vol. 98, Issue 4, pp. 336–345). [https://doi.org/10.1111/j.1742-](https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_167.x)
2398 [7843.2006.pto_167.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_167.x)
- 2399 Moore, M. N., & Simpson, M. G. (1992). Molecular and cellular pathology in
2400 environmental impact assessment. *Aquatic Toxicology*, 22(4), 313–322.
2401 [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(92\)90047-Q](https://doi.org/10.1016/0166-445X(92)90047-Q)
- 2402 Moreira, F. D. S. (2020). *Impactos das mudanças climáticas sobre a distribuição*
2403 *geográfica de Itapotihyla langsdorffii (ANURA: HYLIDAE)* (Master's thesis,
2404 Universidade Federal de Pelotas).
- 2405 Motta, E. V. S., & Moran, N. A. (2023). The effects of glyphosate, pure or in herbicide
2406 formulation, on bumble bees and their gut microbial communities. *Science of the*
2407 *Total Environment*, 872. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162102>
- 2408 Motta, E. V. S., Raymann, K., & Moran, N. A. (2018). Glyphosate perturbs the gut
2409 microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of*
2410 *the United States of America*, 115(41), 10305–10310.
2411 <https://doi.org/10.1073/pnas.1803880115>
- 2412 Nicholson, S., & Lam, P. K. S. (2005). Pollution monitoring in Southeast Asia using
2413 biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). In *Environment*
2414 *International* (Vol. 31, Issue 1, pp. 121–132). Elsevier Ltd.
2415 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.05.007>
- 2416 Nogueira-Neto, P. (1997). Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. In *Vida e*
2417 *criação de abelhas indígenas sem ferrão* (pp. 446–446).
- 2418 Oliveira, R. J. , S. M. J. S. , S. A. F. , K. T. Y. N. , L. A. C. S. L. , Leite. , V. S. , Matiazi.
2419 , H. J. , Pesarini. , J. , Ribeiro. , L. R. , M. M. S. (2013). *In vivo evaluation of the*
2420 *antimutagenic and antigenotoxic effects of b-glucan extracted from*
2421 *Saccharomyces cerevisiae in acute treatment with multiple doses.*
2422 www.sbg.org.br
- 2423 Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated
2424 by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326. [https://doi.org/10.1111/j.1600-](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x)
2425 [0706.2010.18644.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x)
- 2426 Page, R. E., & Peng, C. Y.-S. (2001). Aging and development in social insects with
2427 emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. In *Experimental Gerontology* (Vol.
2428 36). www.elsevier.nl/locate/expgero
- 2429 Panis, C., Candiottto, L. Z. P., Gaboardi, S. C., Gurzenda, S., Cruz, J., Castro, M., &
2430 Lemos, B. (2022). Widespread pesticide contamination of drinking water and
2431 impact on cancer risk in Brazil. *Environment International*, 165.
2432 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107321>
- 2433 Pereira De Oliveira, M., Doutor, O. :, Horta, J. M., Silva, C., Doutor, S., José, P.,
2434 Branco, L., Susana, D., & Amaral, D. (2022). *Avaliação dos efeitos do inseticida*

- 2435 *piretróide esfenvalerato na atividade comportamental de uma espécie piscícola*
 2436 *exótica, o alburno (Alburnus alburnus), num sistema de mesocosmos Engenharia*
 2437 *do Ambiente.*
- 2438 Peris, A., Barbieri, M. V., Postigo, C., Rambla-Alegre, M., López de Alda, M., & Eljarrat,
 2439 E. (2022). Pesticides in sediments of the Ebro River Delta cultivated area (NE
 2440 Spain): Occurrence and risk assessment for aquatic organisms. *Environmental*
 2441 *Pollution*, 305. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119239>
- 2442 Pignati, W. A. , M. J. M. H. , C. J. F. (2019). Acidente rural ampliado: o caso das
 2443 “chuvas” de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde - MT. *Saúde e*
 2444 *Ciência Coletiva*, 12, 105–114.
- 2445 Pignati, W. A., Lima, F. A. N. de S. e, Lara, S. S. de, Correa, M. L. M., Barbosa, J. R.,
 2446 Leão, L. H. da C., & Pignatti, M. G. (2017). Distribuição espacial do uso de
 2447 agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. *Ciência &*
 2448 *Saúde Coletiva*, 22(10), 3281–3293. [https://doi.org/10.1590/1413-](https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017)
 2449 [812320172210.17742017](https://doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017)
- 2450 Pires, C. S. S., Pereira, F. de M., Lopes, M. T. do R., Nocelli, R. C. F., Malaspina, O.,
 2451 Pettis, J. S., & Teixeira, É. W. (2016). Enfraquecimento e perda de colônias de
 2452 abelhas no Brasil: há casos de CCD? *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(5),
 2453 422–442. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500003>
- 2454 Poletto, N. P. (2008). *Estudo do papel da homeostase do cálcio na reparação de danos*
 2455 *no DNA em diferentes linhagens**Estudo do papel da homeostase do cálcio na*
 2456 *reparação de danos no DNA em diferentes linhagens de Saccharomyces*
 2457 *cerevisiae de Saccharomyces cerevisiae.*
- 2458 Possidônio De Amarante Junior, O., Rodrigues, T. C., & Santos, D. (2002). Glifosato:
 2459 propriedades, toxicidade, usos e legislação. In *Quim. Nova* (Vol. 25, Issue 4).
- 2460 RAMOS, J. M., & Carvalho, N. D. (2007). Estudo morfológico e biológico das fases de
 2461 desenvolvimento de *Apis mellifera*. *Revista científica eletrônica de Engenharia*
 2462 *Florestal*, 6(10), 1-21..
- 2463 Relyea, R. A. (2005). The Impact of Insecticides and Herbicides on the Biodiversity
 2464 and Productivity of Aquatic. In *Source: Ecological Applications* (Vol. 15, Issue 2).
- 2465 Rindere, T. E. (1998). The Identification of Honey Bees> An Assessment of
 2466 Morphometric, Biochemical, and Molecular Approaches. *ACTA ZOOLOGIA*
 2467 *ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE*, 44, 177–194.
- 2468 Roman, S. S., Scolari, S., Bergamin, N. A., & Sachetti, C. G. (2009). Toxicidade renal
 2469 e hepática em camundongos prenhes expostos à associação do ácido 2, 4
 2470 diclorofenoxiacético e do glifosato. *Revista Eletrônica de*
 2471 *Farmácia*, 6(2).<https://doi.org/10.5216/ref.v6i2.6562>
- 2472 RUBIO, F; EMILY. G. (2014). Survey of Glyphosate Residues in Honey, Corn and Soy
 2473 Products. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 05(01).
 2474 <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000249>
- 2475 Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the
 2476 entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232, 8–27.
 2477 <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>

- 2478 Santos, M. J. B. A. (2022). *Avaliação do efeito protetor do ácido fítico contra o dano*
2479 *ao DNA induzido por estresse oxidativo.*
- 2480 Sharma, R. K., Patel, S., & Pargaian, K. C. (2012). Synthesis, characterization and
2481 properties of Mn-doped ZnO nanocrystals. *Advances in Natural Sciences:*
2482 *Nanoscience and Nanotechnology*, 3(3). [https://doi.org/10.1088/2043-](https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/3/035005)
2483 [6262/3/3/035005](https://doi.org/10.1088/2043-6262/3/3/035005)
- 2484 Shetty, B. R., Jagadeesha, P. B., & Salmataj, S. A. (2025). Heavy metal contamination
2485 and its impact on the food chain: exposure, bioaccumulation, and risk assessment.
2486 *CyTA - Journal of Food*, 23(1). <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2438726>
- 2487 Sies, H. (1991). Klinische Wochen-schrift Role of Reactive Oxygen Species in
2488 Biological Processes. In *Klin Wochenschr* (Vol. 69).
- 2489 SILVA, . *Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer, 2014.*
2490 (n.d.).
- 2491 Silveira, T., Kütter, M. T., Martins, C. M. G., Marins, L. F., Boyle, R. T., Campos, V. F.,
2492 & Remião, M. H. (2021). First Record of *Clinostomum* sp. (Digenea:
2493 Clinostomidae) in *Danio rerio* (Actinopterygii: Cyprinidae) and the Implication of
2494 Using Zebrafish from Pet Stores on Research. *Zebrafish*, 18(2), 139–148.
2495 <https://doi.org/10.1089/zeb.2020.1950>
- 2496 Stefanini, M., Martino, C., & ZAMBONI, L. (1967). Fixation of Ejaculated Spermatozoa
2497 for Electron Microscopy. *Nature*, 216(5111), 173–174.
2498 <https://doi.org/10.1038/216173a0>
- 2499 Szarek, J., Siwicki, A., Andrzejewska, A., Terech-Majewska, E., & Banaszkiewicz, T.
2500 (2000). *E€ects of the herbicide Roundup TM on the ultrastructural pattern of*
2501 *hepatocytes in carp (Cyprinus carpio).* www.elsevier.com/locate/marenvrev
- 2502 Tamie Matsumoto, S., Sérgio Mantovani, M., Irene Ariza Malaguttii, M., Lúcia Dias, A.,
2503 Cristina Fonseca, I., & Aparecida Marin-Morales, M. (2006). *Genotoxicity and*
2504 *mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the*
2505 *micronucleus test and comet assay using the fish Oreochromis niloticus and*
2506 *chromosome aberrations in onion root-tips.* www.sbg.org.br
- 2507 Tan, S., Li, G., Liu, Z., Wang, H., Guo, X., & Xu, B. (2022). Effects of glyphosate
2508 exposure on honeybees. In *Environmental Toxicology and Pharmacology* (Vol.
2509 90). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103792>
- 2510 Teh, S. J., Adamsb, S. M., & Hinton, D. E. (1997). Histopathologic biomarkers in feral
2511 freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. In
2512 *Aquatic Toxicology* (Vol. 37).
- 2513 Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T., & Satayavivad, J.
2514 (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen
2515 receptors. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 129–136.
2516 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.057>
- 2517 Tice, D. M., Butler, J. L., Muraven, M. B., & Stillwell, A. M. (1995). When modesty
2518 prevails: Differential favorability of self-presentation to friends and strangers.
2519 *Journal of Personality and Social Psychology*, 69(6), 1120–1138.
2520 <https://doi.org/10.1037/0022-3514.69.6.1120>

- 2521 vanEngelsdorp, D., & Meixner, M. D. (2010). A historical review of managed honey
2522 bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect
2523 them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(SUPPL. 1).
2524 <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>
- 2525 Wiese. H. (2005). *APICULTURA novos tempos* (2nd ed.).
- 2526 Winter, S., Bauer, T., Strauss, P., Kratschmer, S., Paredes, D., Popescu, D., Landa,
2527 B., Guzmán, G., Gómez, J. A., Guernion, M., Zaller, J. G., & Batáry, P. (2018).
2528 Effects of vegetation management intensity on biodiversity and ecosystem
2529 services in vineyards: A meta-analysis. In *Journal of Applied Ecology* (Vol. 55,
2530 Issue 5, pp. 2484–2495). Blackwell Publishing Ltd. [https://doi.org/10.1111/1365-](https://doi.org/10.1111/1365-2664.13124)
2531 [2664.13124](https://doi.org/10.1111/1365-2664.13124)
- 2532 Woodcock, B. A., Bullock, J. M., Shore, R. F., Heard, M. S., Pereira, M. G., Redhead,
2533 J., Ridding, L., Dean, H., Sleep, D., Henrys, P., Peyton, J., Hulmes, S., Hulmes,
2534 L., Sárospataki, M., Saure, C., Edwards, M., Genersch, E., Knäbe, S., & Pywell,
2535 R. F. (2017). Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees
2536 and wild bees. *Science*, 356(6345), 1393–1395.
2537 <https://doi.org/10.1126/science.aaa1190>
- 2538 Zaluski, R., Kadri, S. M., Alonso, D. P., Martins Ribolla, P. E., & de Oliveira Orsi, R.
2539 (2015). Fipronil promotes motor and behavioral changes in honey bees (*Apis*
2540 *mellifera*) and affects the development of colonies exposed to sublethal doses.
2541 *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(5), 1062–1069.
2542 <https://doi.org/10.1002/etc.2889>
- 2543 Zanette, L. R. S., Martins, R. P., & Ribeiro, S. P. (2005). Effects of urbanization on
2544 Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and*
2545 *Urban Planning*, 71(2–4), 105–121.
2546 <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2004.02.003>
- 2547 Zelaya., M. J. . C. J. L. B. F. A. V. G. V. , O. E. K. M. E. O. G. A. M. (2004). Análisis de
2548 Glifosato y AMPA en Balcarce: Cromatografía Líquida y Espectrometría de
2549 masas. . *Aspectos Ambientales Del Uso de Glifosato* , 35.
- 2550 Zhang, L., Rana, I., Shaffer, R. M., Taioli, E., & Sheppard, L. (2019). Exposure to
2551 glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-
2552 analysis and supporting evidence. *Mutation Research/Reviews in Mutation*
2553 *Research*, 781, 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.02.001>
- 2554 Zhang, W., Xu, M., Feng, Y., Mao, Z., & Yan, Z. (2024). The Effect of Procrastination
2555 on Physical Exercise among College Students—The Chain Effect of Exercise
2556 Commitment and Action Control. *International Journal of Mental Health*
2557 *Promotion*, 26(8), 611–622. <https://doi.org/10.32604/ijmh.2024.052730>
- 2558 Zhu, X., Mahurin, S. M., An, S. H., Linh Do-Thanh, C., Tian, C., Li, Y., Gill, L. W.,
2559 Hagaman, E. W., Bian, Z., Zhou, J. H., Hu, J., Liu, H., & Dai, S. (2014). Efficient
2560 CO₂ capture by a task-specific porous organic polymer bifunctionalized with
2561 carbazole and triazine groups. *Chemical Communications*, 50(59), 7933–7936.
2562 <https://doi.org/10.1039/c4cc01588f>