

RAQUEL DINIZ MARQUES

**TOXICIDADE DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO À VESPA SOCIAL PREDADORA
Mischocyttarus cassununga (HYMENOPTERA: VESPIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Maria Augusta Lima Siqueira

Coorientadores: André Rodrigues de Souza
Madelaine Venzon
Rodrigo Cupertino Bernardes

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Marques, Raquel Diniz, 1995-

M357t Toxicidade do inseticida imidacloprido à vespa social
2022 predadora *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera: Vespidae)
/ Raquel Diniz Marques. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (34 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Maria Augusta Lima Siqueira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Entomologia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 26-34.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.594>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Imidacloprido (Inseticida) - Toxicologia. 2. Vespas -
Efeito dos inseticidas. 3. Vespas - Comportamento.
4. Sociedades de insetos . I. Siqueira, Maria Augusta Lima,
1976-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Entomologia.
III. Título.

CDD 22. ed. 632.9517

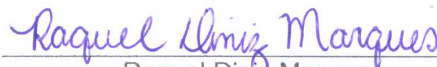
RAQUEL DINIZ MARQUES

TOXICIDADE DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO À VESPA SOCIAL PREDADORA
Mischocyttarus cassununga (HYMENOPTERA: VESPIDAE)

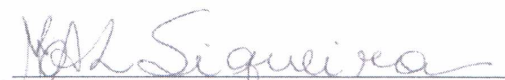
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 22 de agosto de 2022.

Assentimento:



Raquel Diniz Marques
Autora



Maria Augusta Lima Siqueira
Orientadora

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Marizane e Ruston, por serem únicos, por serem referência de vida e pessoa, por serem presentes, por me amarem e me apoiarem incondicionalmente.

Ao meu irmão, Rafael, por caminhar comigo desde o primeiro dia, por me ajudar sempre, por formar comigo em Ciências Biológicas na UFV, por ser o meu melhor amigo, por me fazer rir.

À minha família, em especial: Vó Ita, Tia Márcia, Tio Juninho e Mirelle.

Ao meu noivo, Luiz Antônio, por me escolher todos os dias, por ser o meu parceiro de vida, por ser o meu amor.

Aos meus amigos de BH, em especial as gêmeas Bella e Celle, Betina, Gabi.

Aos meus eternos amigos da Biologia: Híviny, Josimar, Raíssa, Thamylles e Fran Santana.

À minha orientadora Maria Augusta, pela confiança, pela orientação, pela oportunidade, pelos 6 anos de trabalho e bom convívio, e, por não me ver apenas como aluna, mas sim como pessoa.

Aos meus coorientadores, amigos, parceiros: André e Rodrigo.

Aos meus amigos do mestrado: Dayvson, Andressa e Mirele Lopes.

Às minhas parceiras de laboratório (Laboratório de Abelhas e Vespas e outros): Lívia, Thaís, Ingrid, Lis, Gabi, Luiza, Rafaela, Vanessa, Weslane e Darah.

Aos professores Lino, Well e colaboradores.

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de Pós-graduação em Entomologia (UFV), pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001- , pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

MARQUES, Raquel Diniz, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Toxicidade do inseticida imidacloprido à vespa social predadora *Mischocyttarus cassununga* (HYMENOPTERA: VESPIDAE)**. Orientadora: Maria Augusta Lima Siqueira. Coorientadores: André Rodrigues de Souza, Madelaine Venzon e Rodrigo Cupertino Bernardes.

O inseticida imidacloprido é amplamente utilizado na agricultura para o controle químico de pragas. No entanto, possíveis efeitos nocivos desse pesticida sobre inimigos naturais, como vespas predadoras, têm sido pouco estudados. Neste trabalho, foi avaliado efeitos letais e subletais do imidacloprido sobre a vespa social *Mischocyttarus cassununga* (Von Ihering, 1903). Em laboratório, fêmeas foram expostas oralmente por 72 horas a oito concentrações de imidacloprido (4; 4,8; 6; 12; 24; 48; 96; 192 mg de i.a./L) para análise de sobrevivência. As concentrações letais CL_{50} e CL_{10} foram estimadas em 36,11 e 7,46 mg i.a./L, respectivamente. Essas duas concentrações foram subsequentemente usadas em experimentos comportamentais de exposição crônica e aguda. Os resultados mostraram que a sobrevivência das vespas diminuiu com a ingestão de concentrações crescentes de imidacloprido; a ingestão de dieta contaminada com CL_{50} ou CL_{10} afetou negativamente o comportamento de locomoção (distância percorrida, número de paradas e meandros), mas não houve efeitos sobre o comportamento alimentar (repelência e fagoinibição). Especificamente, as vespas não discriminaram alimento contaminado de não contaminado. Assim, os resultados sugerem que *M. cassununga* está sujeita à contaminação oral por imidacloprido, podendo resultar em efeitos letais e subletais (comportamento), portanto, este inseticida pode apresentar riscos potenciais para vespas predadoras expostas em campo.

Palavras-chave: Vespas sociais. Imidacloprido. Efeito letal. Efeitos subletais.

ABSTRACT

MARQUES, Raquel Diniz, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2022. **Toxicity of imidacloprid insecticide to predatory social wasps *Mischocyttarus cassununga* (HYMENOPTERA: VESPIDAE)**. Adviser: Maria Augusta Lima Siqueira. Co-advisers: André Rodrigues de Souza, Madelaine Venzon and Rodrigo Cupertino Bernardes.

The imidacloprid insecticide is widely used in agriculture for chemical pests control. However, possible harmful effects of this pesticide on natural enemies, such as predatory wasps, have been poorly studied. In this work, lethal and sublethal effects of imidacloprid on the social wasp *Mischocyttarus cassununga* (Von Ihering, 1903) were evaluated. In the laboratory, females were orally exposed for 72 hours to eight concentrations of imidacloprid (4; 4.8; 6; 12; 24; 48; 96; 192 mg a.i./L) for survival analysis. The lethal LC₅₀ and LC₁₀ concentrations were estimated 36.11 and 7.46 mg a.i./L, respectively. These two concentrations were subsequently used in behavioral analysis of chronic and acute exposure. The results showed that wasps survival decreased with ingestion of increasing concentrations of imidacloprid; ingestion of a diet contaminated with LC₅₀ or LC₁₀ negatively affected locomotion behavior (distance traveled, number of stops and meandering), but there were no effects on feeding behavior (repellence and phagoinhibition). Specifically, wasps did not discriminate between contaminated and uncontaminated food. Thus, the results suggest that *M. cassununga* is subject to oral contamination by imidacloprid, with may result in lethal and sublethal effects (behavior), therefore, this insecticide may present potential risks to predatory wasp exposed in the field.

Keywords: Social wasps. Imidacloprid. Lethal effect. Sublethal effects.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1. Vespas e Inseticida	10
2.2. Sobrevivência.....	11
2.3. Comportamento de locomoção	12
2.4. Comportamento alimentar.....	13
2.5. Análises estatísticas.....	14
3. RESULTADOS	16
3.1. Curva de concentração-mortalidade e concentrações letais (CLs).....	16
3.2. Sobrevivência.....	17
3.3. Comportamento de locomoção	18
3.4. Comportamento alimentar.....	20
4. DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO.....	25
6. REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

A aplicação de pesticidas tem sido amplamente utilizada com o objetivo de combater insetos considerados pragas agrícolas e também mitigar os prejuízos causados por eles na agricultura (Mahmood et al., 2016). Isso porque, insetos-praga são parcialmente responsáveis pela perda anual de 18-26% da produção agrícola mundial (Culliney, 2014) e, só no Brasil, os prejuízos são de aproximadamente US\$ 15 bilhões/ano (Oliveira et al., 2014). Como consequência disso, o Brasil se destaca por ser um grande consumidor de inseticidas (Rigotto et al., 2014, Fernandes et al., 2020), cerca de 685 toneladas de ingredientes ativos foram vendidos no território em 2020 (dados apresentados pelo IBAMA em agosto de 2021, conforme o art. 41 do Decreto n° 4.074/2002).

O uso excessivo de inseticidas tem resultado no desenvolvimento de resistência em insetos-alvo (Bass et al., 2015, Castellanos et al., 2019, Rajna et al., 2021), contaminação de ambientes agrícolas e urbanos (Tiryaki & Temur, 2010, Meftaul et al., 2020) e, intoxicação de artrópodes benéficos, como polinizadores e inimigos naturais (Desneux et al., 2007, Cloyd & Bethke, 2011, Ramos et al., 2018, Willis et al., 2021). Além disso, nos últimos anos, o uso intensivo tem sido associado com a perda da abundância e biodiversidade de espécies de insetos não-alvo (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019, Sgolastra et al., 2020, Battisti et al., 2021), em especial, espécies de polinizadores expostos aos inseticidas neonicotinoides (Goulson, 2013, Gilburn et al., 2015, Woodcock et al., 2016, Forister et al., 2016).

Dentre os inseticidas aplicados nos cultivos, o neonicotinoide imidacloprido é um dos mais utilizados (Simon-Delso et al., 2015), e, devido ao seu modo de ação, ele é altamente eficaz contra insetos indesejados (Tomizawa e Casida, 2005). O composto atua no sistema nervoso central (SNC) do organismo intoxicado, onde se liga e ativa os receptores nicotínicos de acetilcolina (AChRs) localizados nos neurônios pós-sinápticos (Matsuda et al., 2001). Consequentemente há uma hiperexcitação do SNC, além de descargas que causam a exaustação da energia celular, perda da coordenação muscular, convulsões e, finalmente, a morte do inseto (Yu, 2015, Simon-Delso et al., 2015). Entretanto, a eficácia do imidacloprido também pode prejudicar insetos não-alvo que visitam culturas tratadas (Koch & Weisser, 1997, Botías et al., 2015, Long & Krupke, 2016) e um crescente número de evidências científicas tem demonstrado existir uma relação entre o uso de imidacloprido e

toxicidade em abelhas (Hopwood et al., 2016), formigas, cupins (Rondeau et al., 2014) e vespas parasitoides (Preetha et al., 2010, Paine et al., 2011, Almasi et al., 2018).

A detecção de toxicidade do imidacloprido e outros inseticidas sintéticos permanece uma lacuna importante para as avaliações de risco do composto sobre vespas sociais predadoras (Batista et al., 2022), um grupo importante e consistentemente presente em áreas agrícolas (Richter, 2000). E, apesar da toxicidade do imidacloprido ter sido estudada em inúmeras espécies de abelhas sociais (Assis, et al., 2022, Bernardes et al., 2022b), estudos com vespas sociais predadoras são inexistentes, à exceção de um trabalho no qual uma formulação comercial do imidacloprido foi usada como controle positivo (Teixeira et al., 2022). Em condições realistas, é possível que essas vespas sejam expostas a concentrações recomendadas para uso em campo ou às concentrações mais baixas do neonicotinoide, que podem causar efeitos letais ou subletais às vespas e suas colônias, como demonstrado em outras espécies de insetos (Gill et al., 2012, Brandt et al., 2016, Chaimanee et al., 2016).

As rotas de exposição a inseticidas em vespas operárias se assemelham às rotas definidas para as abelhas (Krupke et al., 2012, Roubik, 2014, Pisa et al., 2015), sendo assim, as vespas podem ser expostas de duas formas principais: ingerindo recursos contaminados ou entrando em contato direto com os compostos durante as pulverizações em campo (Stanley e Preetha, 2016). Vespas operárias saem da colônia para forragear carboidratos (por exemplo, néctar) (Guimaraes et al., 2008), proteínas (presas, principalmente insetos herbívoros como lepidópteros desfolhadores), mas também fibras vegetais usadas na construção do ninho (Elisei et al., 2010, Detoni & Prezoto, 2021). O compartilhamento do alimento forrageado com formas imaturas e com adultos companheiros de ninho constituem possíveis rotas adicionais de exposição (Feldhaar & Otti, 2020). A translocação do imidacloprido dentro da planta, devido a sua ação sistêmica (Kurwadkar & Evans, 2016), supostamente aumenta o risco de exposição das vespas de forma que recursos vegetais, como néctar, podem conter resíduos do composto (Wood & Goulson, 2017).

Vespas eussociais (HYMENOPTERA: VESPIDAE) são popularmente conhecidas como marimbondos ou vespas de papel. Elas são encontradas em diversas regiões do mundo, entretanto, a maior riqueza (Polistinae) ocorre na região Neotropical, particularmente no Brasil (Richards, 1978; Somavilla et al., 2021). Esses himenópteros são prestadores de vários serviços ecossistêmicos (Brock et al., 2021),

entre eles, realizam um efetivo controle biológico de insetos-praga (Rabb & Lawson, 1957, Lourido et al., 2019, Southon et al., 2019). Portanto, vespas sociais têm potencial para uso como inimigos naturais em sistemas de manejo integrado de pragas (MIP), principalmente em países tropicais onde o uso de inseticidas é elevado (Ekström & Ekbohm, 2011, Souza et al., 2021). Além disso, a conservação de populações naturais de vespas sociais predadoras pode contribuir com a redução do uso de pesticidas devido ao efetivo biocontrole fornecido por elas (Prezoto et al., 2019).

A vespa eussocial *Mischocyttarus cassununga* (Von Ihering, 1903) (Vespidae:Polistinae) tem sido frequentemente reportada em vários biomas brasileiros (Barros et al., 2010, Fortes et al., 2021). Esta espécie também forrageia e nidifica naturalmente em diferentes agroecossistemas (Junior, 2008, De Castro Jacques et al., 2015, Barbosa et al., 2018, Schoeninger et al., 2020). A nidificação ocorre em substratos vegetais, mas também artificiais (Detoni et al., 2018), sugerindo o potencial para translocação de colônias para culturas de interesse. Colônias são iniciadas de forma independente por uma fêmea (Carpenter & Marques, 2001), e em determinadas fases do ciclo colonial podem conter dezenas de adultos forrageadores (Castro et al., 2014). Devido ao fato das colônias serem ativas praticamente o ano todo e o provisionamento larval ser progressivo (Ross & Matthews, 1991), a demanda por alimento proteico é contínua, e com isso, o forrageio em culturas é diário. Conseqüentemente, o comportamento de predação efetuado por essas vespas deve ser frequente.

Neste trabalho, foi investigada a toxicidade letal e subletal do imidacloprido sobre a vespa social *M. cassununga*. Vespas forrageadoras foram expostas de forma oral e crônica a concentrações crescentes do composto para testar as hipóteses de que a ingestão de imidacloprido reduz a sobrevivência e afeta o comportamento de locomoção. Uma exposição oral aguda foi realizada para testar o efeito no comportamento alimentar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Vespas e Inseticida

Forrageadoras de *Mischocyttarus cassununga* foram obtidas em ninhos naturais coletados no campus da Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil (20°45'S e 42°52'W). Essas vespas saem dos ninhos para coletar recursos e assim podem ser expostas a pesticidas durante as atividades de forrageio. A coleta foi feita na parte da manhã utilizando potes de plástico (volume: 250ml; 7,5cm diâmetro x 6cm Altura) (De Souza et al., 2021) que foram colocados sobre os ninhos e arrastados lateralmente para que o ninho soltasse do substrato e caísse dentro do pote. Posteriormente, as vespas foram transportadas para o Laboratório de Abelhas e Vespas (LAV - UFV) onde permaneceram acondicionadas dentro dos potes (27°C e 45% umidade) para se aclimatarem. Em todos os bioensaios (sobrevivência, comportamento de locomoção e comportamento alimentar) foram usadas forrageadoras de *M. cassununga* obtidas em colônias coletadas em fase de pós-emergência (fase da emergência do primeiro adulto até o declínio da colônia). Cada vespa foi considerada uma repetição e usada em apenas em um bioensaio. No laboratório, as vespas obtidas em diferentes colônias foram distribuídas individualizadas e aleatoriamente em arenas, até o início dos testes toxicológicos. À exceção dos bioensaios de comportamento alimentar, essas arenas continham pequenas perfurações para a passagem de ar e uma única abertura lateral para adição do alimentador, que continha concentrações crescentes de imidacloprido diluído em solução de açúcar com água destilada (xarope; 1V:1V) (Teixeira et al., 2022).

Nos bioensaios, foi usada uma formulação comercial do neonicotinoide imidacloprido (Nortox suspensão concentrada 480 g i.a./L, Nortox S. A, Paraná, Brasil). A solução estoque foi diluída no xarope. Para o bioensaio de sobrevivência e estimativa das concentrações letais (CL₅₀ e CL₁₀), oito concentrações crescentes do agroquímico foram fornecidas *ad libitum* às vespas (4; 4,8; 6; 12; 24; 48; 96; 192 mg de i.a./L). Para obter essa faixa de concentrações, foi realizado um experimento preliminar, para identificar a concentração que causou baixa mortalidade (próxima de 10%) e aquela que causou alta mortalidade (próxima a 90%) (Bernardes et al., 2022c). Para os bioensaios comportamentais, foram fornecidas duas concentrações letais

estimadas (CL₅₀ e CL₁₀) de imidacloprido. Vespas submetidas ao controle negativo foram tratadas com alimento não contaminado (xarope puro), nas mesmas condições.

2.2. Sobrevivência

Após a distribuição nas arenas individuais, as vespas foram submetidas a um jejum de 24 horas e posteriormente expostas ao alimento contendo imidacloprido por 72 horas (Botina et al., 2020). O período de jejum foi definido em testes preliminares, para estimular o consumo das dietas tratadas com o inseticida. Após o jejum, os alimentadores contendo uma das oito concentrações de imidacloprido (4; 4,8; 6; 12; 24; 48; 96; 192 mg de i.a./L) foram inseridos nas arenas (Figura 1). Um controle negativo contendo xarope puro (0 mg i.a./L) foi oferecido sob as mesmas condições. Os alimentadores eram microtubos de 2ml (Eppendorf®, São Paulo, SP, Brasil) furados na sua extremidade para que as vespas pudessem acessar livremente a dieta. Esses microtubos foram inseridos na abertura lateral da arena.

Para cada tratamento utilizou-se 18 vespas, totalizando 162 (n=162) insetos avaliados, coletados de 18 ninhos naturais. A sobrevivência foi verificada a cada 12 horas, durante as 72 horas de exposição. E as vespas foram consideradas mortas quando não respondiam a um estímulo mecânico.

Figura 1. Foto ilustrativa de uma vespa *Mischocyttarus cassununga* dentro da arena. A arena continha pequenas perfurações para a passagem de ar e uma única abertura lateral para adição do alimentador (microtubos de 2ml; Eppendorf®).



Fonte: próprio autor, 2022.

2.3. Comportamento de locomoção

Os dados da mortalidade permitiram a estimativa das concentrações letais de imidacloprido para *M. cassununga* após 72 horas de exposição. Duas concentrações letais foram selecionadas para exposição oral de um novo conjunto de vespas que foram submetidas aos ensaios comportamentais (CL_{50} : 36,11 mg i.a./L e CL_{10} : 7,46 mg i.a./L), além do tratamento com xarope puro (controle negativo; 0 mg i.a./L). Após um jejum de 24 horas dentro das arenas, alimentadores contendo um dos três tratamentos (CL_{50} : 36,11 mg i.a./L, CL_{10} : 7,46 mg i.a./L, controle negativo: 0 mg i.a./L) foram fornecidos às vespas. Aquelas vespas que sobreviveram ao período de exposição (72 horas), foram transferidas individualmente para placas de Petri (9cm de diâmetro x 2cm de altura) onde o seu caminhar foi filmado por 10 minutos com uma câmera de vídeo digital (Nikon D3500, com lente de 18-55 mm) a 60 fps e alta definição (resolução de pixel de 1920 × 1080) (adaptado de Bernardes et al., 2022).

Essa câmera foi posicionada em cima da placa de Petri, mantida dentro de uma caixa opaca e iluminada com fontes de luz artificial (LED) para facilitar a visualização.

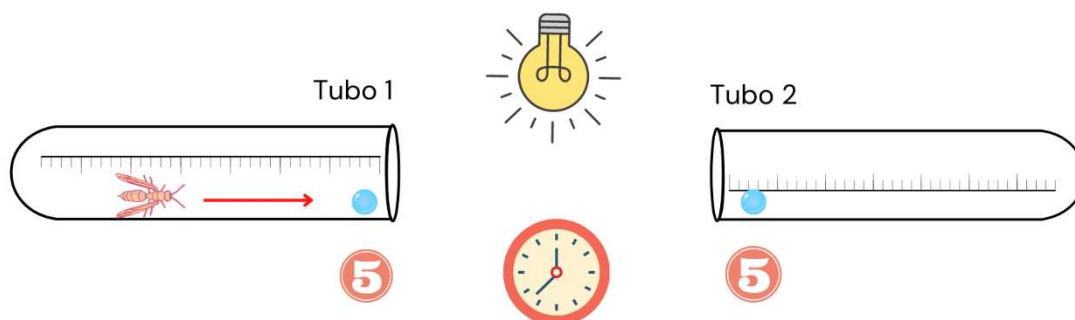
Os vídeos gerados foram posteriormente analisados através do programa Ethoflow® (Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI, Brasil, BR 512020 000737-6; Bernardes et al., 2021), que é baseado em inteligência artificial para análise automática do comportamento (Bernardes et al., 2021). Esse programa calcula um conjunto de dados comportamentais, como distância percorrida (cm) pelo inseto na arena, número de paradas e desorientação (meandro; $^{\circ} \text{cm}^{-1}$). O meandro é um parâmetro usado em análise de comportamento animal e ele é associado a orientação de movimento do inseto. Insetos com valor maior de meandro, apresentam um comportamento de locomoção menos orientado, portanto, mais desorientado/desnorteado frente à exposição ao inseticida. Essa variável é calculada somando os ângulos girados pelo inseto e dividindo pela distância percorrida por ele. Foram filmadas 14 vespas por tratamento (36,11 mg i.a./L; 7,46 mg i.a./L; 0 mg i.a./L), totalizando 42 vespas nesse bioensaio comportamental.

2.4. Comportamento alimentar

Para testar se o alimento contaminado com imidacloprido causa repelência alimentar ou fagoinibição em forrageadoras de *M. cassununga*, o que poderia reduzir os riscos de exposição em campo, foram realizados novos ensaios sobre o comportamento alimentar das vespas. Elas passaram por um jejum de 3 horas e então, foram apresentadas a duas gotas sucessivas contendo 1 μl de alimento cada (esse alimento foi previamente corado com anilina para facilitar a visualização do consumo). Ou essa gota continha uma das duas concentrações letais de imidacloprido (CL_{50} : 36,11 mg i.a./L, CL_{10} : 7,46 mg i.a./L) ou xarope puro (controle negativo; 0 mg i.a./L). Após o jejum, a vespa foi colocada dentro de um tubo de ensaio (18cm de comprimento x 2cm de diâmetro) e posteriormente a gota de alimento (1 μl) foi adicionada na parede do tubo com o auxílio de uma pipeta. Essa vespa foi atraída até a gota de alimento utilizando uma fonte de luz (LED) e observada por 5 minutos, para verificação do consumo do alimento presente (Figura 2). A mesma vespa foi imediatamente transferida para o tubo 2 nas mesmas condições. Como foram usados dois tubos (cada um com uma gota de alimento), o tempo total para o teste foi de 10 minutos por indivíduo. O bioensaio foi feito utilizando 3 tratamentos: I) primeira gota

com alimento contaminado com a concentração CL_{50} (36,11 mg i.a./L) e a segunda gota com alimento não contaminado (0 mg i.a./L); II) primeira e segunda gota com alimento não contaminado (0 mg i.a./L) (controle) e III) primeira gota contaminada com a concentração CL_{10} (7,46 mg i.a./L) e segunda gota com alimento não contaminado (0 mg i.a./L). Considerou-se que houve repelência alimentar quando a vespa não ingeriu a primeira gota contaminada com imidacloprido, mas ingeriu a segunda gota com alimento puro não contaminado. Vespas que ingeriram a primeira gota com alimento contaminado, porém não ingeriram a segunda gota com alimento puro, foram consideradas fago-inibidas (adaptado de Teixeira et al., 2022). A resposta comportamental de cada vespa foi classificada como: “consumiu apenas a primeira gota de alimento”, “consumiu apenas a segunda gota de alimento”, “consumiu ambas as gotas de alimento” ou “não consumiu nenhuma gota de alimento”. Os testes foram feitos com 50 vespas por tratamento, totalizando 150 indivíduos nesse bioensaio. As vespas foram coletadas de 30 ninhos naturais.

Figura 2. Ilustração do bioensaio de comportamento alimentar de vespas *Mischocyttarus cassununga* expostas a duas gotas sucessivas contendo 1 μ l de alimento. Uma fonte de luz artificial (LED) foi aproximada dos tubos (18cm de comprimento x 2cm de diâmetro) para atrair a vespa até a gota.



Fonte: próprio autor, 2022.

2.5. Análises estatísticas

Os efeitos da ingestão de concentrações crescentes do imidacloprido sobre a sobrevivência de *M. cassununga* foram avaliados usando o estimador de *Kaplan-Meier* que gerou as curvas de sobrevivência e os tempos médios de sobrevivência

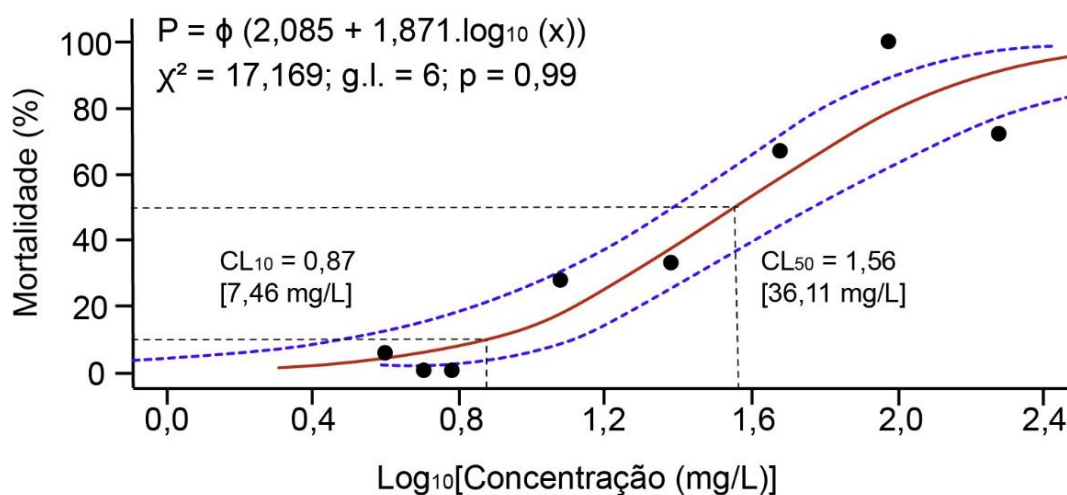
(TL₅₀) para os diferentes tratamentos. A similaridade geral entre as curvas foi testada usando o teste *Log-Rank* ($p < 0,05$) e comparações pareadas entre os tratamentos foram realizadas pela correção de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Para os dados de mortalidade, um modelo concentração-resposta (Probit) foi utilizado para estimar as concentrações letais de 50% e 10% (CL₅₀ e CL₁₀). O modelo foi considerado bem ajustado quando $p > 0.05$ (Carvalho et al., 2017). Para os bioensaios comportamentais (alimentação e locomoção) foram amostrados vários indivíduos das mesmas colônias. Assim, foi feita uma seleção de modelos a serem escolhidos entre modelos de efeitos mistos, que incluíam o ninho de origem de cada vespa como efeito aleatório, e, modelos sem o ninho de origem como efeito aleatório. Essa seleção foi baseada no menor valor do critério de informação de Akaike (AIC) para cada modelo amostrado. Como os modelos sem efeito aleatório apresentaram melhores valores de AIC, foram ajustados GLMs com distribuição binomial para dados alimentares, o que é adequado para variável resposta de proporção (ou seja, a proporção de vespas que exibiram cada tipo de comportamento alimentar: “consumiu apenas a primeira gota de alimento”, “consumiu apenas a segunda gota de alimento”, “consumiu ambas as gotas de alimento” ou “não consumiu nenhuma gota de alimento”. Cada um desses comportamentos foi considerado como variável dependente, e os tratamentos com imidacloprido como variável explicativa. No teste de locomoção, para a resposta comportamental número de paradas, foi ajustado um GLM com distribuição binomial negativa, pois a variável é do tipo contagem e essa distribuição evita a sobredispersão (alta deviência residual) (Crawley, 2012). Além disso, foi realizada análise de variância (ANOVA) para as demais variáveis comportamentais: distância percorrida e meandros, considerando o tratamento com agroquímico como variável explicativa. A variável meandros (y) foi transformada com a função box-cox ($y^{(\lambda-1)}/\lambda$; $\lambda = -0.55$) para adequar a distribuição gaussiana e seguir os pressupostos da ANOVA. Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2020).

3. RESULTADOS

3.1. Curva de concentração-mortalidade e concentrações letais (CLs)

Os dados de mortalidade das vespas após 72 horas de exposição oral ao imidacloprido se ajustaram ao modelo Probit ($\chi^2 = 17,169$, $gl = 6$, $p = 0,99$). Esse resultado confirma que existe uma relação entre concentração e mortalidade. As concentrações letais CL_{50} e CL_{10} foram estimadas em, respectivamente: 36,11 mg i.a./L e 7,46 mg i.a./L (Figura 3 e Tabela 1). A exposição ao imidacloprido na concentração de 96 mg i.a./L causou 100% de mortalidade nas vespas (Figura 2; Tabela 1).

Figura 3. Curva de concentração-mortalidade para vespas *Mischocyttarus cassununga* expostas oralmente ao imidacloprido por 72 horas. Os pontos pretos representam a porcentagem de mortalidade das vespas após a exposição às concentrações testadas nesse estudo (18 vespas por tratamento). A linha vermelha é a estimativa baseada no modelo Probit (probabilidade de mortalidade em função da concentração de imidacloprido) e as linhas azuis os intervalos de confiança superior e inferior de 95%. CL_{50} e CL_{10} são indicadas pelas linhas pretas pontilhadas. As concentrações foram transformadas por $\log_{10}x$. $P =$ equação da curva e $\phi =$ distribuição normal padrão.



Fonte: próprio autor, 2022.

Tabela 1. Concentração-mortalidade do inseticida imidacloprido para vespas *Mischocyttarus cassununga* expostas oralmente por 72 horas.

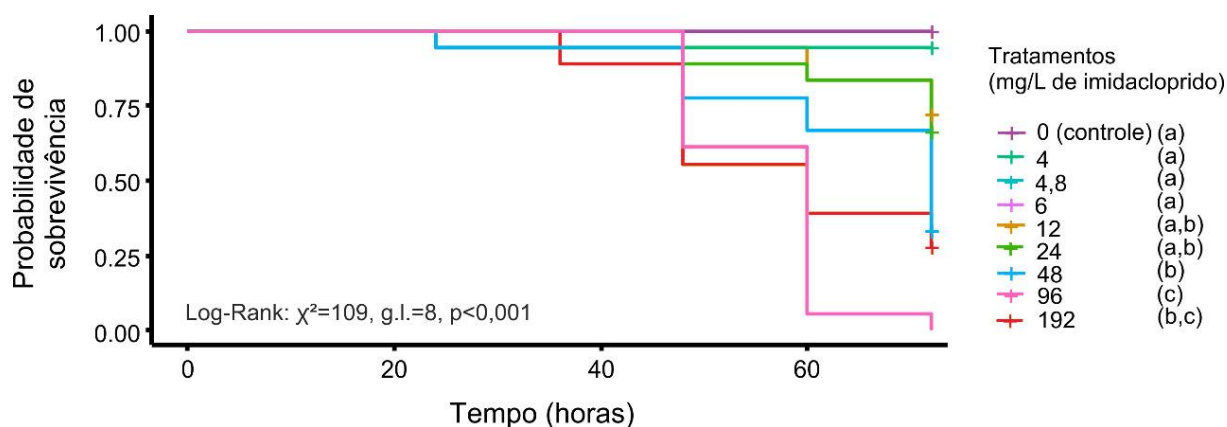
N	Inclinação(\pm EP)	CL ₅₀ (IC95) mg i.a./L	CL ₁₀ (IC95) mg i.a./L	χ^2	g.l.	p-valor
162	1,871 \pm 0,60	36,11 (24.611; 56.679)	7,459 (3.479; 11.874)	17,17	6	0,99

N: Número de insetos utilizados; EP: Erro padrão; IC: Intervalo de confiança; χ^2 : Chi-quadrado; GL: Grau de liberdade. Fonte: próprio autor.

3.2. Sobrevivência

A ingestão de dieta contaminada com imidacloprido reduziu a sobrevivência de vespas *M. cassununga* ($\chi^2= 109$, gl= 8, $p<0,001$; Figura 4) após 72 horas de exposição oral. A sobrevivência foi de 100% para as vespas que não foram expostas ao inseticida (0 mg de i.a./L), indicando que a metodologia utilizada foi validada para avaliações toxicológicas.

Figura 4. Curva de sobrevivência de vespas *Mischocyttarus cassununga* expostas oralmente às concentrações crescentes de imidacloprido (0; 4; 4,8; 6; 12; 24; 48; 96; 192 mg de i.a./L) diluídas em solução açucarada. A exposição aos diferentes tratamentos foi de 72 horas e a sobrevivência foi registrada a cada 12 horas (N= 162 vespas). As vespas foram mantidas em arenas individualizadas com alimentadores contendo as diferentes soluções, após jejum de 24 horas. Curvas codificadas com letras diferentes na legenda diferiram significativamente pelo método de Bonferroni ($p<0,05$).



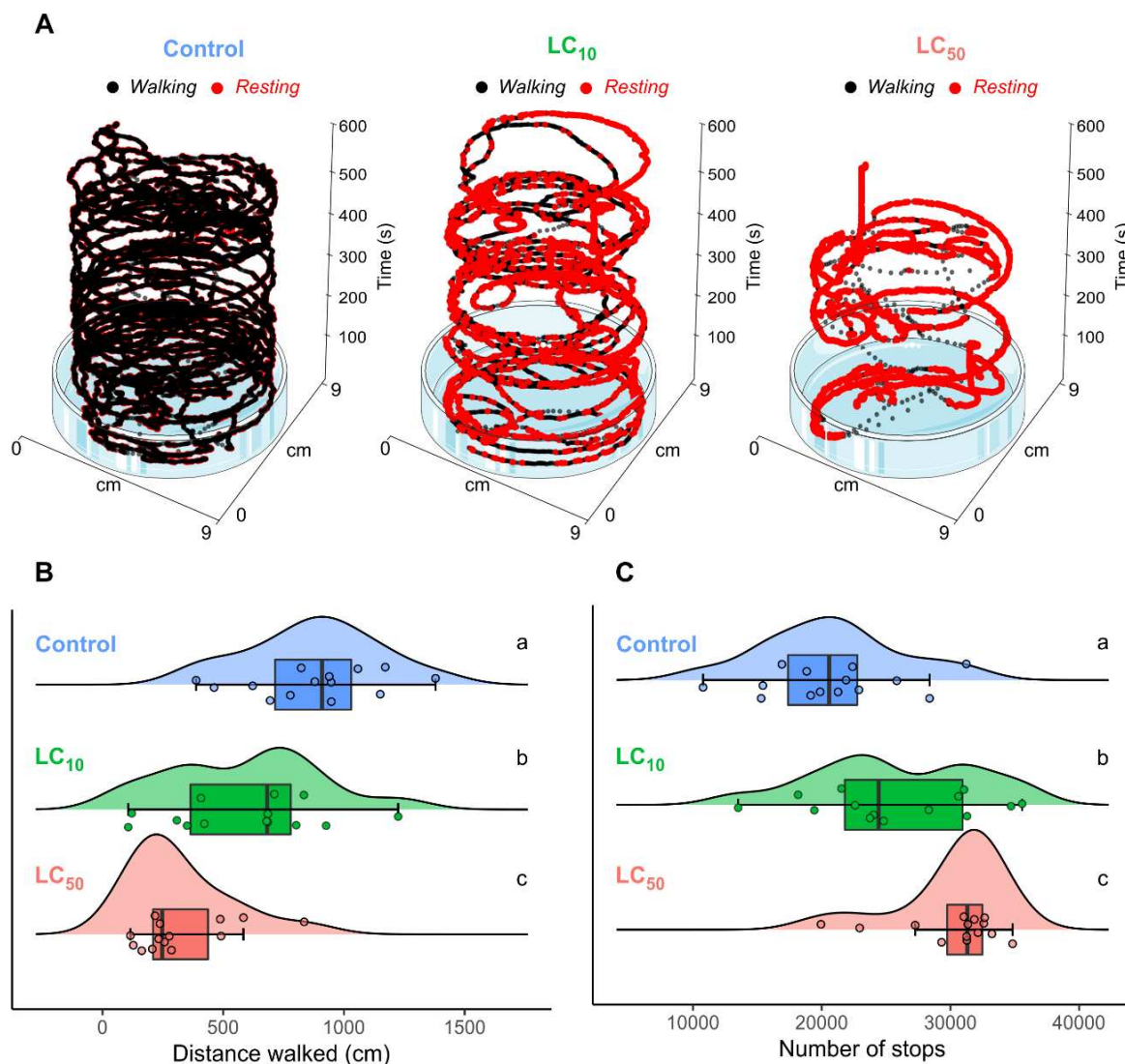
Fonte: próprio autor, 2022.

O tempo letal mediano (TL₅₀) para vespas expostas a 48 mg i.a./L foi de 72 horas e TL₅₀ de 60 horas para as concentrações mais altas: 96 mg i.a./L e 192 mg i.a./L (Figura 4). As demais concentrações não tiveram seu TL₅₀ estimado porque a mortalidade foi inferior a 50% nessas concentrações.

3.3. Comportamento de locomoção

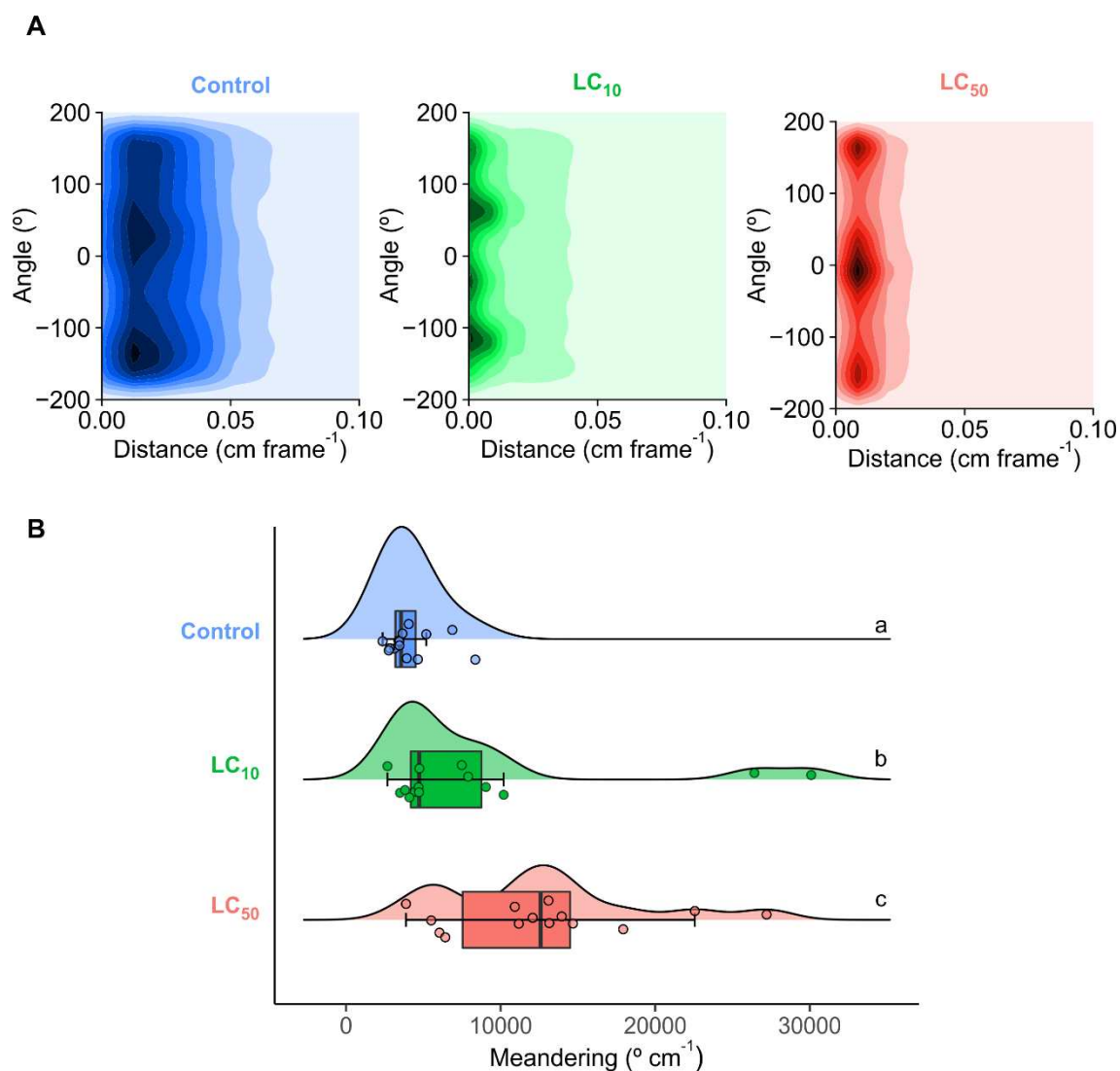
O imidacloprido afetou negativamente o comportamento de locomoção das vespas expostas. Houve diferença significativa na distância percorrida ($F_{2, 39} = 14.65$, $p < 0.001$) e número de paradas ($F_{2, 39} = 9.64$, $p < 0.001$), indicando uma diminuição da distância percorrida pelos indivíduos e aumento no número de paradas dependente do aumento da concentração (Figura 5). Além disso, houve diferença significativa no meandro ($F_{2, 39} = 14.1$, $p < 0.001$), indicando que os indivíduos apresentaram deslocamento mais desorientado/desordenado dependente do aumento da concentração do agroquímico (Figura 6).

Figura 5. Efeito da exposição oral de 72 horas ao imidacloprido no comportamento de locomoção de vespas *Mischocyttarus cassununga* para cada tratamento (CL₅₀: 36,11 mg i.a./L e CL₁₀: 7,46 mg i.a./L). (A) Trilhas 3D representativas de 10 minutos (600 segundos) de atividade de caminhada nas placas de petri (9cm × 2cm) analisadas com o programa Ethoflow®. A cor da trilha indica quando o indivíduo estava caminhando (preto) ou descansando (vermelho). Distribuição e boxplot da distância percorrida (cm) (B) e número de paradas (C) exibidas por 14 vespas (pontos na distribuição) em cada tratamento (n= 42 vespas). Os boxplots indicam a mediana e a faixa de dispersão (quartis inferior e superior). Os tratamentos representados por letras diferentes são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0.05$).



Fonte: próprio autor, 2022

Figura 6. Efeito da exposição oral ao imidacloprido sobre o comportamento de locomoção de vespas *Mischocyttarus cassununga*. (A) Representação 2D da densidade de ângulos girados pelo indivíduo em relação a distância percorrida em cada frame de vídeo durante o monitoramento por 10 minutos (600s). (B) Distribuição e boxplot do meandro (definido como a soma dos ângulos de rotação divididos pela soma da distância percorrida) exibido por 14 vespas (pontos na distribuição) em cada tratamento (n= 42). Os boxplots indicam a mediana e a faixa de dispersão (quartis inferior e superior). Os tratamentos representados por letras diferentes são significativamente diferentes de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$).



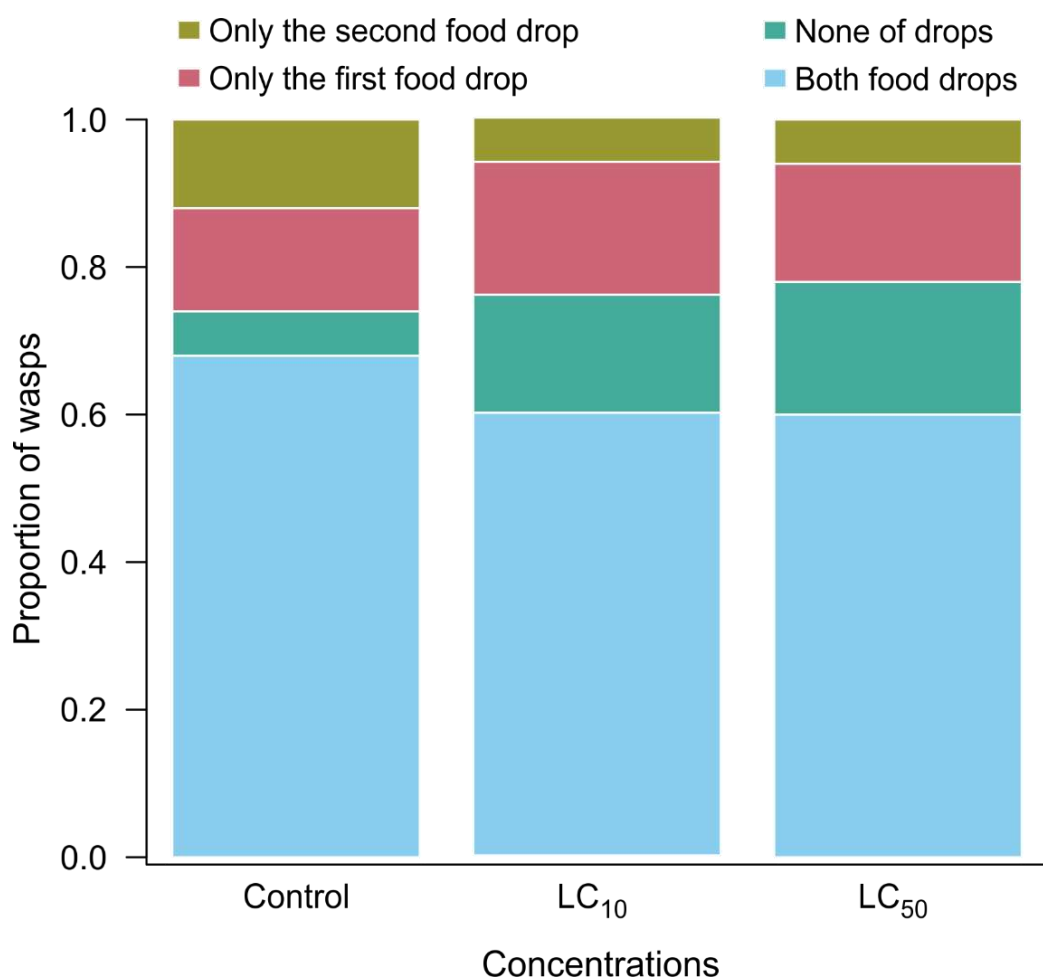
Fonte: próprio autor, 2022.

3.4. Comportamento alimentar

Diferentes concentrações de imidacloprido (CL₅₀: 36,11 mg i.a./L e CL₁₀: 7,46 mg i.a./L) não provocaram antialimentação (fagoinibição e repelência alimentar) em *M. cassununga*. A maioria das vespas ingeriu as duas gotas de alimento em todos os tratamentos realizados. Portanto, não houve nenhum efeito significativo para qualquer variável resposta: “consumiu apenas a primeira gota de alimento” ($\chi^2 = 131.6$, df = 147, p = 0.86); “consumiu apenas a segunda gota de alimento” ($\chi^2 = 82.1$, df = 147, p = 0.46); “consumiu ambas as gotas de alimento” ($\chi^2 = 197.3$, df = 147, p = 0.63); “não consumiu nenhuma gota de alimento” ($\chi^2 = 113.8$, df = 147, p = 0.14) (Figura 7), indicando que as concentrações testadas de imidacloprido não causaram

comportamento de repelência ou fagoinibição em vespas tratadas com imidacloprido. Portanto, essas vespas não discriminaram o alimento contaminado do não contaminado.

Figura 7. Consumo alimentar de vespas *Mischocyttarus cassununga* após exposição aguda e oral a duas concentrações letais de imidacloprido (CL_{10} : 7,46 mg i.a./L e CL_{50} : 36,11 mg i.a./L) via gotas de alimento contaminado seguidas de alimento não contaminado (xarope puro). As vespas do controle foram submetidas à ingestão de duas gotas contendo xarope puro. As respostas comportamentais das vespas foram classificadas em: “consumiu ambas as gotas de alimento” (ou seja, contaminada seguida da não contaminada), “consumiu apenas a primeira gota de alimento” (ou seja, apenas contaminada), “consumiu apenas a segunda gota de alimento” (ou seja, apenas não contaminada), “não consumiu nenhuma das gotas”. Os dados são plotados com base na porcentagem de vespas que realizaram cada resposta comportamental (n = 150 vespas).



Fonte: próprio autor, 2022.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, a hipótese de que a ingestão do inseticida imidacloprido é prejudicial à vespa *Mischocyttarus cassununga* foi confirmada pela primeira vez. Concentrações realistas de imidacloprido causaram efeitos letais e subletais às vespas adultas, indicando que cenários reais de exposição impõem risco toxicológico substancial às forrageadoras, o que provavelmente prejudicará também suas colônias e suas crias. Como as forrageadoras constituem o grupo responsável pela coleta diária de presas (Tindo & Dejean, 1998) e recursos florais que podem estar contaminados (Dively & Kamel, 2012, Jiang et al., 2018) com o pesticida, os resultados do presente trabalho evidenciam a incompatibilidade entre o uso desse inseticida e o controle biológico mediado por *M. cassununga* em agroecossistemas.

A redução na sobrevivência de *M. cassununga* expostas a concentrações crescentes de imidacloprido reflete a intoxicação oral causada pelo inseticida devido ao seu modo de ação sobre os insetos. Essa redução da sobrevivência foi observada a partir da concentração de 48 mg i.a./L (figura 4) e tanto essa concentração quanto as concentrações mais altas e as concentrações letais estimadas (CL₅₀: 36,11 mg i.a./L e CL₁₀: 7,46 mg i.a./L) provavelmente se encontram abaixo das concentrações recomendadas pelo fabricante para uso em campo. Portanto, pode-se assumir risco alto à sobrevivência de *M. cassununga* ainda que as vespas ingiram alimento contaminado com concentrações baixas de imidacloprido, o que ocorre, por exemplo, quando há degradação da molécula em campo (Wu & Xue, 2012, Bonmatin et al., 2015, Mahapatra et al., 2017, Pang et al., 2020). Efeitos negativos sobre a sobrevivência já eram esperados, pois diversos trabalhos demonstraram a toxicidade letal desse agroquímico em espécies de insetos, como polinizadores (Raymann et al., 2018, Marques et al., 2020) e inimigos naturais de pragas agrícolas (Prabhaker et al., 2011, Khani et al., 2012, Krischik et al., 2014). Porém, efeitos letais causados pela ingestão de concentrações baixas de imidacloprido foram surpreendentes e reforçam que o uso do produto seja avaliado com cautela não somente em plantios que necessitam de polinizadores, como também em culturas beneficiadas pelo controle biológico e outros serviços ecossistêmicos prestados pelas vespas sociais.

Os resultados da resposta comportamental (Figura 5 e 6) corroboram as investigações sobre efeitos subletais do imidacloprido que interferem no desempenho comportamental do inseto (Tomé et al., 2012, Bernardes et al., 2022a). As

concentrações correspondentes às CL₅₀ (36,11 mg i.a./L) e CL₁₀ (7,46 mg i.a./L) prejudicaram a locomoção das vespas nas três variáveis testadas. A diminuição da distância percorrida por vespas contaminadas, o aumento no número de paradas dependente do aumento da concentração de imidacloprido, além da diferença significativa encontrada no meandro, indicam redução na mobilidade e deslocamento desorientado (devido ao maior valor de meandro) das vespas contaminadas e isso provavelmente ocorreu devido à atividade neurotóxica do neonicotinoide (Lunardi et al., 2017) e alterações fisiológicas no sistema nervoso (Palmer et al., 2013, Cabirol & Haase, 2019). As alterações comportamentais observadas nesse trabalho e também a redução na mobilidade geral de vespas adultas expostas podem, em condições naturais, comprometer a atividade de voo (Matos et al., 2021) e consequentemente a eficiência de forrageio (Henry et al., 2012, Feltham et al., 2014) e o retorno para a colônia (Schneider et al., 2012, Fischer et al., 2014), o que pode levar a limitação alimentar no ninho. Efeitos prejudiciais sobre a orientação de voo de insetos não-alvo causados pela exposição ao imidacloprido (DL₂₀) foram relatados em abelhas *Apis mellifera* quando expostas por via oral ou contato ao inseticida (Santos et al., 2018).

O sucesso da colônia de vespas depende da atividade constante e eficiente das fêmeas forrageadoras, pois são elas que protegem os imaturos bem como buscam alimento progressivamente durante todo o desenvolvimento larval e, se isso não ocorrer, a sobrevivência e manutenção da colônia estará comprometida. Neste trabalho foram investigados apenas os impactos do imidacloprido sobre indivíduos adultos de *M. cassununga*, o que não descarta a relevância de se avaliar os efeitos nocivos sobre os imaturos (Seide et al., 2018, Tomé et al., 2020) e a nível colonial (Gill et al., 2012, Whitehorn et al., 2012). Efeitos prejudiciais de pesticidas sobre colônias de vespas sociais foram demonstrados para o gênero *Polistes*, mas nesse trabalho, utilizou-se um biopesticida (Teixeira et al., 2022). Portanto, vespas eussociais constituem um grupo que pode ser usado como modelo para estudos toxicológicos com neonicotinoides e outros compostos (Barros et al., 2015). Por exemplo, vespas sociais *Polybia paulista* expostas a concentrações diluídas do inseticida tiametoxam foram mais sensíveis ao efeito do composto em comparação com abelhas melíferas e abelhas sem ferrão, a partir de comparações feitas entre as DL₅₀ encontradas. Dessa forma, os autores concluíram que esse inseticida é altamente tóxico para forrageadoras de *P. paulista* (Batista et al., 2022).

A falta de repelência ao alimento contaminado com imidacloprido (Figura 8) indica que é improvável que vespas *M. cassununga* evitem a exposição ao visitarem flores, coletarem água ou presas contaminadas com inseticida, o que poderia supostamente reduzir o risco de contaminação desses insetos. Estudos têm demonstrado que *A. mellifera*, assim como *B. terrestris* também não são repelidas por alimento contendo neonicotinoides, e para além disso, preferem recursos contaminados com o inseticida (Kessler et al., 2015, Arce et al., 2018). Contrastando com esses achados, concentrações diluídas de imidacloprido causaram repelência em insetos da ordem Diptera e Coleoptera (Easton e Goulson, 2013). Dessa forma, é possível que as características repelentes e os efeitos do imidacloprido varie entre os táxons e que vespas tenham maior risco de exposição em relação a espécies com comportamento de repelência alimentar ao imidacloprido. Também não foi encontrado efeitos fagoinibidores em vespas expostas, pois a grande maioria delas ingeriram a gota de alimento puro (0 mg i.a./L) mesmo após ingerirem o alimento contendo umas das duas concentrações do composto (CL₅₀:36,11 mg i.a./L e CL₁₀:7,46 mg i.a./L).

O conhecimento sobre o impacto dos agroquímicos em espécies de vespas predadoras permanece praticamente inexistente. Os estudos em sua grande maioria são realizados com espécies de abelhas (Blacquiere et al., 2012, Brito et al., 2020), em virtude da sua importância como polinizadores (Uhl & Brühl, 2019). Entretanto, as vespas também fornecem serviços ecossistêmicos essenciais (Brock et al., 2021), pois predam espécies de insetos-praga (Bacci et al., 2019) e assim, são capazes de controlar populações de pragas agrícolas (Lourido et al., 2019) e consequentemente reduzir o uso de agrotóxicos (Prezoto et al., 2019). Estudos ecotoxicológicos envolvendo inimigos naturais, como foi feito nesse trabalho, irão contribuir com a seleção adequada de espécies em programas de controle biológico estáveis, uma vez que a aplicação de inseticidas não-seletivos (ou seja, causa efeitos negativos sobre a praga e ao inimigo natural) pode afetar diretamente as respostas comportamentais e a eficiência do inimigo natural escolhido (Stapel et al., 2000, Geiger et al., 2010, Bommarco et al., 2011, Tappert et al., 2017). Também irão contribuir para o levantamento de informações que auxiliem a preservação desses insetos. Dessa forma, as avaliações de risco de pesticidas devem incluir outras espécies de vespas sociais e avaliar outros efeitos subletais para que se possa elucidar a magnitude dos efeitos nocivos dos neonicotinoides sobre esses inimigos naturais. Além disso,

estudos em campo também são necessários para avaliar o risco real de exposição que vespas sociais e suas colônias estão sujeitas.

5. CONCLUSÃO

- Exposição oral a concentrações realistas de imidacloprido reduz a sobrevivência e compromete a locomoção de vespas sociais;
- Vespas não discriminam alimento contaminado de não contaminado;
- Incompatibilidade entre neonicotinoides e vespas predadoras.

6. REFERÊNCIAS

- Almasi, Ali, et al. "The prospect of using sub-lethal imidacloprid or pirimicarb and a parasitoid wasp, *Lysiphlebus fabarum*, simultaneously, to control *Aphis gossypii* on cucumber plants." *Journal of Asia-Pacific Entomology* 21.1 (2018): 161-167.
- Arce, Andres N., et al. "Foraging bumblebees acquire a preference for neonicotinoid-treated food with prolonged exposure." *Proceedings of the Royal Society B* 285.1885 (2018): 20180655.
- Assis, Josimere Conceição, et al. "Are native bees in Brazil at risk from the exposure to the neonicotinoid imidacloprid?." *Environmental Research* 212 (2022): 113127.
- Bacci, Leandro, et al. "Natural mortality factors of tomato leafminer *Tuta absoluta* in open-field tomato crops in South America." *Pest management science* 75.3 (2019): 736-743.
- Barbosa, Bruno Corrêa, et al. "Occurrence of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) in a sugarcane culture." *Sociobiology* 65.2 (2018): 320-324.
- Barros Alvarenga, Raphaela, et al. "Nesting of social wasps (Hymenoptera, Vespidae) in urban gardens in Southeastern Brazil." *Sociobiology* 55.2 (2010): 445-452.
- Barros, Emerson C., et al. "Physiological selectivity and activity reduction of insecticides by rainfall to predatory wasps of *Tuta absoluta*." *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 50.1 (2015): 45-54.
- Bass, Chris, et al. "The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides." *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121 (2015): 78-87.
- Batista, Nathan Rodrigues, et al. "Is the social wasp *Polybia paulista* a silent victim of neonicotinoid contamination?." *Environmental Pollution* (2022): 119682.
- Battisti, Lucas, et al. "Is glyphosate toxic to bees? A meta-analytical review." *Science of the Total Environment* 767 (2021): 145397.
- Bernardes, Rodrigo Cupertino, et al. "Ethoflow: computer vision and artificial intelligence-based software for automatic behavior analysis." *Sensors* 21.9 (2021): 3237.
- Bernardes, Rodrigo Cupertino, et al. "Toxicological assessment of agrochemicals on bees using machine learning tools." *Journal of Hazardous Materials* 424 (2022a): 127344.
- Bernardes, Rodrigo Cupertino, et al. "Artificial Intelligence-Aided Meta-Analysis of Toxicological Assessment of Agrochemicals in Bees." *Frontiers in Ecology and Evolution* (2022b): 425.

- Bernardes, Rodrigo Cupertino, et al. "Impact of copper sulfate on survival, behavior, midgut morphology, and antioxidant activity of *Partamona helleri* (Apidae: Meliponini)." *Environmental Science and Pollution Research* 29.4 (2022c): 6294-6305.
- Blacquiere, Tjeerd, et al. "Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment." *Ecotoxicology* 21.4 (2012): 973-992.
- Bommarco, Riccardo, et al. "Insecticides suppress natural enemies and increase pest damage in cabbage." *Journal of Economic Entomology* 104.3 (2011): 782-791.
- Bonmatin, J. M., et al. "Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil." *Environmental science and pollution research* 22.1 (2015): 35-67.
- Botías, Cristina, et al. "Neonicotinoid residues in wildflowers, a potential route of chronic exposure for bees." *Environmental science & technology* 49.21 (2015): 12731-12740.
- Botina, Lorena L., et al. "Toxicological assessments of agrochemical effects on stingless bees (Apidae, Meliponini)." *MethodsX* 7 (2020): 100906.
- Brandt, Annely, et al. "The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.)." *Journal of insect physiology* 86 (2016): 40-47.
- Brito, Pedro, et al. "The effects of field-realistic doses of imidacloprid on *Melipona quadrifasciata* (Apidae: Meliponini) workers." *Environmental Science and Pollution Research* 27.31 (2020): 38654-38661.
- Brock, Ryan E., Alessandro Cini, and Seirian Sumner. "Ecosystem services provided by aculeate wasps." *Biological Reviews* 96.4 (2021): 1645-1675.
- Cabirol, Amélie, & Albrecht Haase. "The neurophysiological bases of the impact of neonicotinoid pesticides on the behaviour of honeybees." *Insects* 10.10 (2019): 344.
- Carpenter, James M., & Oton M. Marques. "Contribuição ao estudo dos vespídeos do Brasil." *Série publicações digitais* 3 (2001).
- Carvalho, José R., et al. "Análise de probit aplicada a bioensaios com insetos." (2017).
- Castellanos, Nathaly L., et al. "Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs." *Journal of Pest Science* 92.2 (2019): 847-860.
- Castro, Mariana M. de et al. "Nesting substrata, colony success and productivity of the wasp *Mischocyttarus cassununga*." *Revista Brasileira de Entomologia* 58 (2014): 168-172.

- Chaimanee, Veeranan, et al. "Sperm viability and gene expression in honey bee queens (*Apis mellifera*) following exposure to the neonicotinoid insecticide imidacloprid and the organophosphate acaricide coumaphos." *Journal of insect physiology* 89 (2016): 1-8.
- Cloyd, Raymond A., & James A. Bethke. "Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments." *Pest management science* 67.1 (2011): 3-9.
- Crawley, M.J. *The R book* (Segunda ed.), Wiley, Chichester (2012)
- Culliney, Thomas W. "Crop losses to arthropods." *Integrated pest management*. Springer, Dordrecht, (2014). 201-225.
- De Castro Jacques, Gabriel, et al. "Diversity of social wasps (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) in an agricultural environment in Bambuí, Minas Gerais, Brazil." *Sociobiology* 62.3 (2015): 439-445.
- Desneux, Nicolas, Axel Decourtye, and Jean-Marie Delpuech. "The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods." *Annu. Rev. Entomol.* 52 (2007): 81-106.
- De Souza, André Rodrigues, et al. "Artificial Environments for Studying Eusocial Wasps." *Neotropical Social Wasps*. Springer, Cham, 2021. 435-442.
- Detoni, Mateus Fajardo de Freitas Salviato, et al. "Long-and short-term changes in social wasp community structure in an urban area." *Sociobiology* 65.2 (2018): 305-311.
- Detoni, Mateus, and Fábio Prezoto. "The foraging behaviour of Neotropical social wasps." *Neotropical Social Wasps*. Springer, Cham, 2021. 47-69.
- Dively, Galen P., and Alaa Kamel. "Insecticide residues in pollen and nectar of a cucurbit crop and their potential exposure to pollinators." *Journal of agricultural and food chemistry* 60.18 (2012): 4449-4456.
- Easton, Amy H., and Dave Goulson. "The neonicotinoid insecticide imidacloprid repels pollinating flies and beetles at field-realistic concentrations." *PLoS One* 8.1 (2013): e54819.
- Elisei, Thiago, et al. "Use of social wasp *Polistes versicolor* on eucalyptus caterpillar control." *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45 (2010): 958-964.
- Ekström, George, & Barbara Ekbom. "Pest control in agro-ecosystems: an ecological approach." *Critical Reviews in Plant Sciences* 30.1-2 (2011): 74-94.
- Feldhaar, Heike, and Oliver Otti. "Pollutants and their interaction with diseases of social Hymenoptera." *Insects* 11.3 (2020): 153.

- Feltham, Hannah, Kirsty Park, and Dave Goulson. "Field realistic doses of pesticide imidacloprid reduce bumblebee pollen foraging efficiency." *Ecotoxicology* 23.3 (2014): 317-323.
- Fernandes, Caroline Lopes Feijo, et al. "Distribution of pesticides in agricultural and urban soils of Brazil: a critical review." *Environmental Science: Processes & Impacts* 22.2 (2020): 256-270.
- Fischer, Johannes, et al. "Neonicotinoids interfere with specific components of navigation in honeybees." *PloS one* 9.3 (2014): e91364.
- Forister, Matthew L., et al. "Increasing neonicotinoid use and the declining butterfly fauna of lowland California." *Biology letters* 12.8 (2016): 20160475.
- Fortes, Elenice Aparecida, et al. "Inventory, colony fluctuation, and wasp nesting social habits in IFSULDEMINAS-Machado Campus." *Comissão editorial* (2021): 83.
- Geiger, Flavia, et al. "Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland." *Basic and Applied Ecology* 11.2 (2010): 97-105.
- Gilburn, Andre S., et al. "Are neonicotinoid insecticides driving declines of widespread butterflies?." *PeerJ* 3 (2015): e1402.
- Gill, Richard J., Oscar Ramos-Rodriguez, and Nigel E. Raine. "Combined pesticide exposure severely affects individual-and colony-level traits in bees." *Nature* 491.7422 (2012): 105-108.
- Guedes, Raul Narciso C., Spencer S. Walse, and James E. Throne. "Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress." *Current opinion in insect science* 21 (2017): 47-53.
- Guimaraes, Daniela Lemos, Mariana Monteiro de Castro, and Fabio Prezoto. "Patterns of honey storage in colonies of the social wasp *Mischocyttarus cassununga* (Hymenoptera, Vespidae)." *Sociobiology* 51.3 (2008): 655-660.
- Goulson, Dave. "An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides." *Journal of Applied Ecology* 50.4 (2013): 977-987.
- Henry, Mickaël, et al. "A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees." *Science* 336.6079 (2012): 348-350.
- Hopwood, Jennifer, et al. "How neonicotinoids can kill bees." *The Science Behind the Role These Insecticides Play in Harming Bees*. Portland, OR: Xerces Society for Invertebrate Conservation (2016).
- Jiang, Jiangong, et al. "Concentrations of imidacloprid and thiamethoxam in pollen, nectar and leaves from seed-dressed cotton crops and their potential risk to honeybees (*Apis mellifera* L.)." *Chemosphere* 201 (2018): 159-167.

- Junior, Cleber Ribeiro. "Levantamento de Vespas Sociais (Hymenoptera, Vespidae) Em Eucaliptocultura." Instituto de Ciências Biológicas, Juiz de fora, MSc diss (2008).
- Kessler, Sébastien C., et al. "Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides." *Nature* 521.7550 (2015): 74-76.
- Khani, A., Ahmadi, F., & Ghadamyari, M. (2012). Side effects of imidacloprid and abamectin on the mealybug destroyer *Cryptolaemus montrouzieri*. *Trakia Journal of Sciences*, 10(3), 30-35.
- Koch, H., & Weisser, P. (1997). Exposure of honey bees during pesticide application under field conditions. *Apidologie*, 28(6), 439-447.
- Krischik, Vera A., Alyson L. Landmark, and George E. Heimpel. "Soil-applied imidacloprid is translocated to nectar and kills nectar-feeding *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae)." *Environmental Entomology* 36.5 (2014): 1238-1245.
- Krupke, Christian H., et al. "Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields." *PLoS one* 7.1 (2012): e29268.
- Kurwadkar, Sudarshan, and Amanda Evans. "Neonicotinoids: systemic insecticides and systematic failure." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 97.6 (2016): 745-748.
- Long, E. Y., & Krupke, C. H. (2016). Non-cultivated plants present a season-long route of pesticide exposure for honey bees. *Nature communications*, 7(1), 1-12.
- Lourido, G. M., Lopes, T. M. V., Somavilla, A., & Guerra, K. F. G. (2019). Social wasps as biological control agents against *Diaphania hyalinata* (Linnaeus, 1767) (Lepidoptera, Crambidae), a cucumber pest in Amazonas, Brazil. *Sociobiology*, 66(4), 610-613.
- Lunardi, Juliana Sartori, Rodrigo Zaluski, and R. O. Orsi. "Evaluation of motor changes and toxicity of insecticides fipronil and imidacloprid in Africanized honey bees (Hymenoptera: Apidae)." *Sociobiology* (2017): 50-56.
- Mahmood, Isra, et al. "Effects of pesticides on environment." *Plant, soil and microbes*. Springer, Cham, (2016). 253-269.
- MAPA. (2022). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em: Julho, 2022.
- Marques, R. D., M. A. P. Lima, and R. C. Bernardes. "A spinosad-based formulation reduces the survival and alters the behavior of the stingless bee *Plebeia lucii*." *Neotropical Entomology* 49.4 (2020): 578-585.

- Matos, Wallace Borges, et al. "Potential source of ecofriendly insecticides: Essential oil induces avoidance and cause lower impairment on the activity of a stingless bee than organosynthetic insecticides, in laboratory." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 209 (2021): 111764.
- Matsuda, Kazuhiko, et al. "Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors." *Trends in pharmacological sciences* 22.11 (2001): 573-580.
- Mahapatra, Bibhab, et al. "Effect of abiotic factors on degradation of imidacloprid." *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 99.4 (2017): 475-480.
- Meftaul, Islam Md, et al. "Pesticides in the urban environment: A potential threat that knocks at the door." *Science of the Total Environment* 711 (2020): 134612.
- Oliveira, C. M., et al. "Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture." *Crop Protection* 56 (2014): 50-54.
- Paine, T. D., C. C. Hanlon, and F. J. Byrne. "Potential risks of systemic imidacloprid to parasitoid natural enemies of a cerambycid attacking *Eucalyptus*." *Biological Control* 56.2 (2011): 175-178.
- Palmer, Mary J., et al. "Cholinergic pesticides cause mushroom body neuronal inactivation in honeybees." *Nature communications* 4.1 (2013): 1-8.
- Pang, Shimei, et al. "Insights into the toxicity and degradation mechanisms of imidacloprid via physicochemical and microbial approaches." *Toxics* 8.3 (2020): 65.
- Pisa, Lennard W., et al. "Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates." *Environmental Science and Pollution Research* 22.1 (2015): 68-102.
- Prabhaker, Nilima, et al. "Compatibility of two systemic neonicotinoids, imidacloprid and thiamethoxam, with various natural enemies of agricultural pests." *Journal of economic entomology* 104.3 (2011): 773-781.
- Preetha, Gnanadhas, et al. "Impact of chloronicotinyl insecticide, imidacloprid on egg, egg-larval and larval parasitoids under laboratory conditons." *Journal of Plant Protection Research* (2010).
- Prezoto, Fábio, et al. "Pest control potential of social wasps in small farms and urban gardens." *Insects* 10.7 (2019): 192.
- Rabb RL, Lawson FR (1957) Some factors influencing the predation of *Polistes* wasps on the tobacco hornworm. *J Econ Entomol* 50:778–784
- Rajna, S., et al. "Susceptibility of Imidacloprid Resistant Whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) to Cyantraniliprole." *Indian Journal of Entomology* (2021): 1-4.

- Ramos, Rodrigo S., et al. "Investigation of the lethal and behavioral effects of commercial insecticides on the parasitoid wasp *Copidosoma truncatellum*." *Chemosphere* 191 (2018): 770-778.
- Raymann, Kasie, et al. "Imidacloprid decreases honey bee survival rates but does not affect the gut microbiome." *Applied and environmental microbiology* 84.13 (2018): e00545-18.
- R Core Team, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Richards, O. W. 1978. *The Social Wasps of the Americas*. British Museum (Natural History), London, 580 pp
- Richter, R.M. Social Wasp (Hymenoptera: Vespidae) Foraging Behavior. *Annu. Rev. Entomol.* 2000, 45, 121– 150.
- Rigotto, Raquel Maria, Dayse Paixão Vasconcelos, and Mayara Melo Rocha. "Pesticide use in Brazil and problems for public health." *Cadernos de Saúde Pública* 30 (2014): 1360-1362.
- Rondeau, Gary, et al. "Delayed and time-cumulative toxicity of imidacloprid in bees, ants and termites." *Scientific reports* 4.1 (2014): 1-8.
- Ross, K. G., & Matthews, R. W. (Eds.). (1991). *The social biology of wasps*. Cornell University Press.
- Roubik, David Ward. *Pollinator safety in agriculture*. 2014.
- Sánchez-Bayo, Francisco, and Kris AG Wyckhuys. "Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers." *Biological conservation* 232 (2019): 8-27.
- Santos, Ane CC, et al. "*Apis mellifera* (Insecta: Hymenoptera) in the target of neonicotinoids: A one-way ticket? Bioinsecticides can be an alternative." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 163 (2018): 28-36.
- Schneider, C. W., Tautz, J., Grünwald, B., & Fuchs, S. (2012). RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera*. *PloS one*, 7(1), e30023.
- Schoeninger, Karine, Alexandre Somavilla, and Andreas Kohler. "Occurrence of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) in farming of organic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in south of Brazil." *Sociobiology* 67.1 (2020): 106-111.
- Seide, V. E., Bernardes, R. C., Pereira, E. J. G., & Lima, M. A. P. (2018). Glyphosate is lethal and Cry toxins alter the development of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. *Environmental Pollution*, 243, 1854-1860.

- Sgolastra, Fabio, et al. "Bees and pesticide regulation: lessons from the neonicotinoid experience." *Biological Conservation* 241 (2020): 108356.
- Simon-Delso, Noa, et al. "Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites." *Environmental Science and Pollution Research* 22.1 (2015): 5-34.
- Somavilla, Alexandre, et al. "List of Species of Social Wasps from Brazil." *Neotropical Social Wasps*. Springer, Cham, 2021. 293-316.
- Southon, Robin J., et al. "Social wasps are effective biocontrol agents of key lepidopteran crop pests." *Proceedings of the Royal Society B* 286.1914 (2019): 20191676.
- Souza, Danilo Isac Maia, et al. "CONTROLE BIOLÓGICO: ESTRATÉGIAS PARA O MANEJO AGROECOLÓGICO DE PRAGAS." *Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente* 2.2 (2021): 6-6
- Stanley, Johnson, Gnanadhas Preetha, and J. Stanley. *Pesticide toxicity to non-target organisms*. Vol. 502. Berlin, Germany: Springer, 2016.
- Stapel JO, Cortesero AM, Lewis WJ (2000) Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biol Control* 17:243–249
- Tappert, L., Pokorny, T., Hofferberth, J., & Ruther, J. (2017). Sublethal doses of imidacloprid disrupt sexual communication and host finding in a parasitoid wasp. *Scientific reports*, 7(1), 1-9.
- Teixeira, Gabrazane VM, et al. "Chronic exposure to a common biopesticide is detrimental to individuals and colonies of the paper wasp *Polistes versicolor*." *Science of The Total Environment* 810 (2022): 152108.
- Tindo, M., & Dejean, A. (1998). Rhythm of activity and feeding behavior of *Belonogaster juncea juncea* (Hymenoptera: Vespidae). *Sociobiology*, 32, 101-108.
- Tiryaki, Osman, and Cemile Temur. "The fate of pesticide in the environment." *Journal of Biological and Environmental Sciences* 4.10 (2010).
- Tomé, Hudson Vaner V., et al. "Imidacloprid-induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*." *PloS one* 7.6 (2012): e38406.
- Tomé, Hudson VV, et al. "Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees." *Environmental Pollution* 256 (2020): 113420.

- Tomizawa, Motohiro, and John E. Casida. "Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action." *Annual review of pharmacology and toxicology* 45 (2005): 247.
- Uhl, Philipp, and Carsten A. Brühl. "The impact of pesticides on flower-visiting insects: A review with regard to European risk assessment." *Environmental toxicology and chemistry* 38.11 (2019): 2355-2370.
- Whitehorn, Penelope R., et al. "Larval exposure to the neonicotinoid imidacloprid impacts adult size in the farmland butterfly *Pieris brassicae*." *PeerJ* 6 (2018): e4772.
- Willis Chan, D. Susan, and Nigel E. Raine. "Population decline in a ground-nesting solitary squash bee (*Eucera pruinosa*) following exposure to a neonicotinoid insecticide treated crop (*Cucurbita pepo*)." *Scientific reports* 11.1 (2021): 1-11.
- Wood, Thomas James, and Dave Goulson. "The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013." *Environmental Science and Pollution Research* 24.21 (2017): 17285-17325.
- Woodcock, Ben A., et al. "Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England." *Nature Communications* 7.1 (2016): 1-8.
- Wu, J., Wei, H., & Xue, J. (2012). Degradation of imidacloprid in chrysanthemi flos and soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(5), 776-780.
- Yu SJ (2015) Classification of insecticides. *The toxicology and biochemistry of insects*, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp 31–102