Revisão

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

Patrícia Azevedo [1,2]*, Roberta Cornélio Ferreira Nocelli[1]

[1]Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação, Rodovia Anhanguera, Km 174, 13600-970, Araras, SP, Brasil.

[2]Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Biologia, Grupo de Genética e Genômica da Conservação, Rodovia SP 127, km 30, 13412-050, Piracicaba, SP, Brasil.

*Contato: azevedo.p89@gmail.com

Resumo. As abelhas são essenciais para a manutenção da variabilidade genética vegetal de plantas silvestres e cultivadas e, consequentemente, para a segurança alimentar mundial. Contudo, são altamente vulneráveis à ação neurotóxica de inseticidas, pelos quais têm como alvo de ação principal o Sistema Nervoso Central e Periférico. A busca por mudanças nas legislações vigentes para avaliação de risco e registro de agrotóxicos têm impulsionado diversos estudos ecotoxicológicos, sendo que avaliações dos impactos desses produtos em nível anatômico e celular são comumente utilizadas. Dessa forma, esta revisão buscou compilar informações essenciais da anatomia do Sistema Nervoso Central da abelha *A. mellifera*, espécie modelo e a mais estudada mundialmente, presentes na literatura e propõe novos esquemas, a fim de facilitar um primeiro contato do leitor com esse sistema visando orientar posteriores aprofundamentos sobre o assunto.

Palavras-chave. *cérebro, corpos pedunculados, gânglio subesofágico, sistema estomogástrico, cadeia nervosa ventral.*

Recebido: 02fev19
Aceito: 12nov20
Publicado: 17nov20
Editorado por Karen dos S. Toledo
Diagramado por Karen dos S. Toledo

Abstract. Bees are essential for the genetic variability maintenance of wild and cultivated plants and, consequently, for global food security. However, they are highly vulnerable to the neurotoxic action of insecticides, whose main target is the Central and Peripheral Nervous System. The search for changes in the current legislation for risk assessment and registration of pesticides has motivated several ecotoxicological studies, since the evaluations of the impacts of these products at the anatomical and cellular level are commonly used. Thus, this review aimed to compile essential information present in the literature about *A. mellifera* Central Nervous System anatomy, a model species and the most studied worldwide, and proposes new schemes, to facilitate a first contact of the reader with this system in order to guide further studies on the subject.

Keywords. *brain, mushroom body, suboesophageal ganglion, stomatogastric nervous system, ventral nerve cord..*

Introdução

A inserção recorrente de diferentes espécies de abelhas na lista de espécies ameaçadas de extinção foi um dos principais argumentos levantados pelo Earthwatch Institute que garantiu às abelhas o título de organismos vivos mais importantes do mundo na última reunião da Royal Geographical Society of London (Concio, 2019; Selvaras et al., 2020). Além disso, os serviços ecossistêmicos prestados por esses insetos foram apontados como extremamente necessários para a manutenção da segurança alimentar mundial devido, principalmente, aos serviços de polinização, uma vez que eles são essenciais para a manutenção da biodiversidade e da variabilidade genética vegetal de plantas silvestres e cultivadas (Kearns e Inouye, 1997; Imperatriz-Fonseca, 2004).

Estima-se que cerca de 75% das principais culturas do mundo dependam da polinização, sendo as abelhas responsáveis por 73% do total dessas polinizações (FAO, 2004). De acordo com Giannini et al. (2015), a contribuição dos polinizadores nas principais culturas comercializadas no Brasil, tanto para exportação como para o mercado interno é de cerca de US$ 12 bilhões de dólares ao ano, o que garante a produção e manutenção de diversas culturas agrícolas, impulsiona o agronegócio no país e movimenta grande parte da economia (Kremen, 2005; Brittain e Potts, 2011).

Apesar de sua importância, a abundância e diversidade desses polinizadores tem sofrido constantes amea-

ças e diminuído drasticamente devido a diversos fatores, dentre eles a perda de hábitats, a incidência de doenças e parasitas, mudanças climáticas, à intensificação agrícola e ao aumento do uso de agrotóxicos, fatores esses que individualmente ou combinados podem prejudicar os serviços ecossistêmicos (Goulson et al., 2015; FAO, 2018; Grab et al., 2019).

Dentre os fatores apontados, o uso de agrotóxicos merece destaque, já que o Brasil está entre os três países que mais ampliaram o consumo de agrotóxicos nos últimos anos (período de 1991 a 2015) em meio aos países que representam as maiores economias do mundo - os países do Mercosul, os BRICS (Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul) e os países integrantes do Tratado Norte-Americano de Livre Comércio (Nafta) - sendo que para cada hectare de área cultivada a quantidade aplicada de agrotóxicos aumentou cerca de quatro vezes e, embora alguns países como a Itália e o Japão apresentem taxas de aplicação por área cultivada maiores que as do Brasil, o uso nesses países têm decrescido ao longo dos anos enquanto que no país o uso têm sido crescente (De Moraes, 2019). Além disso, a intensificação do uso não foi apenas quantitativa como também qualitativa, já que o aumento do uso de produtos de alta ou muita periculosidade teve crescimento, além da utilização de vários tipos de ingredientes ativos combinados (De Moraes, 2019).

Embora não alvos desses compostos, as abelhas são expostas a tais insumos agrícolas ao forragearem em busca de recursos, como o néctar e o pólen, e ao entrarem em contato com folhas/caules, fontes de água ou solos contaminados, além de estarem constantemente vulneráveis à deriva desses produtos aplicados ou pulverizados em áreas adjacentes que podem ser absorvidos pela cutícula ou espiráculos desses insetos (IBAMA, 2012; Kiljanek et al., 2016; Uhl e Brühl, 2019). Vale ressaltar que os efeitos causados por essa exposição podem variar de acordo com as doses e concentrações utilizadas, o tempo de exposição ao agrotóxico e o modo de intoxicação (Lu et al., 2020).

A avaliação da toxicidade dos agrotóxicos para as abelhas no Brasil e no mundo se baseia principalmente nos protocolos da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1998), que visam mensurar as doses letais médias oral (DL50), ou seja, as doses do produto avaliado que causam a mortalidade de 50% da população experimental (EFSA, 2013; Cham et al., 2017). Além disso, a espécie *A. mellifera* é utilizada como organismo-teste, sendo representante dos insetos polinizadores nas avaliações de risco, já que possui uma ampla distribuição geográfica, biologia bem conhecida, é facilmente manejada e mantida em laboratório, um ótimo indicador de qualidade ambiental e é o visitante floral de culturas agrícolas mais frequente (Cham et al., 2017; Dietzsch e Jütte, 2020). Ainda, a espécie *A. mellifera* também é utilizada como modelo na determinação de novos métodos laboratoriais como, por exemplo, métodos de extração de hemolinfa (Butolo et al., 2020) e cultura de tecidos (Azevedo et al., 2020).

Dentre os agrotóxicos, merecem especial atenção os inseticidas, uma vez que as abelhas são insetos e, portanto, altamente vulneráveis a essa classe de agrotóxicos. Grande parte dos inseticidas utilizados atualmente tem como principal alvo de ação o Sistema Nervoso Central e Periférico (SNC e SNP), sendo que as abelhas são altamente vulneráveis à ação neurotóxica desses produtos (Guez et al., 2003; Medrzycki et al., 2003; Decourtye et al., 2004). Ainda, as doses subletais, que normalmente apresentam efeitos subcrônicos (médio prazo) e crônicos (longo prazo), têm apresentado relação direta com modificações anatômicas e estruturais provocadas por alterações celulares nas principais redes de comunicação cerebral desses insetos produzindo, consequentemente, desordens na função neural que impactam diretamente as funções cognitivas (Decourtye et al., 2005; Almeida Rossi et al., 2013; Oliveira et al., 2014; Catae et al., 2018).

Os inúmeros impactos ocasionados pelos agrotóxicos nas populações de abelhas, somados à busca por mudanças nas legislações vigentes (IBAMA, 2017) por meio de comprovações científicas, têm impulsionado diversos estudos ecotoxicológicos, sendo que uma maneira bastante utilizada são as avaliações dos impactos desses insumos agrícolas em nível anatômico, celular e, mais recentemente, em nível molecular.

Contudo, apesar da relevância dos estudos ecotoxicológicos, o entendimento inicial da morfologia e anatomia do sistema nervoso central das abelhas mostra-se de difícil acesso, uma vez que grande parte do material disponível na literatura provém de livros textos gerais sobre insetos e de artigos em língua inglesa com assuntos dispersos acerca da caracterização anatômica do SNC de abelhas. Dessa forma, esta revisão buscou compilar informações essenciais da anatomia do Sistema Nervoso Central da abelha *A. mellifera* presentes na literatura, com o auxílio de esquemas, de forma a facilitar um primeiro contato do leitor com esse sistema visando orientar posteriores aprofundamentos sobre o assunto.

Restringimos nossa busca a publicações que descrevessem a anatomia do SNC da espécie *A. mellifera*, que além de ser a espécie modelo utilizada em estudo ecotoxicológicos, é a mais estudada e, portanto, a mais encontrada em artigos que descrevem a anatomia de abelhas.

Estrutura geral do sistema nervoso da abelha *A. mellifera*

O padrão de organização do sistema nervoso de abelhas é basicamente o mesmo encontrado nos insetos em geral, sendo que uma de suas propriedades fundamentais é a capacidade de cognição para responder aos estímulos e variações ambientais, produzindo determinados comportamentos (Chmiel et al., 2020). Tal capacidade deve-se basicamente ao SNC, o qual é responsável por processar todas as informações recebidas pelo corpo, e ao Sistema Nervoso Periférico (SNP), cuja função é sensorial e está diretamente envolvida na captação dos estímulos ambientais (Cruz-Landim, 2009). Os elementos principais de ambos os sistemas, tanto o SNC quanto do SNP, são as células nervosas ou neurônios. As células de glia, ou células de sustentação também merecem destaque, já que se arranjam junto aos neurônios formando os gânglios

(Hähnlein e Bicker, 1997; Oland e Tolbert, 2003; Edenfeld et al., 2005).

O SNC das abelhas é composto pelo cérebro e pelo sistema estomogástrico, ambos localizados na cabeça, e pela cadeia nervosa ventral, que se estende ao longo do corpo (Cruz-Landim, 2009) (Figura 1). O cérebro é bilobado e constituído pelos gânglios supraesofágico e subesofágico. O gânglio supraesofágico é dividido em três partes: protocérebro, com o qual se relaciona a estrutura dos olhos, deutocérebro que está relacionado ao processamento das informações colhidas pelas antenas e o tritocérebro que, junto ao gânglio subesofágico, é responsável pelo controle das peças bucais e ambos estão relacionados com a percepção gustativa (Brandt et al., 2005; Rybak et al., 2010) (Figura 2a). O gânglio subesofágico é ligado fisicamente ao gânglio supraesofágico por meio da cadeia nervosa ventral (Rehder, 1988; Schröter et al., 2006) que, por sua vez, é composta de um conjunto de gânglios ligados entre si por conectivos e, concomitantemente ao cérebro, fazendo a conexão do SNC com todas as partes do organismo (Banerjee e Bharadwaj, 1974; Keller, 2019). Finalmente, o sistema estomogástrico é constituído por gânglios localizados posteriormente e defronte ao cérebro, cuja função é controlar o funcionamento das vísceras (Bolelli et al., 1998; Brandt et al., 2005; Cruz-Landim, 2009).

O SNP é constituído por nervos, bem como por suas ramificações, que saem dos gânglios dispostos ao longo da cadeia nervosa ventral, pelos neurônios sensoriais localizados nas extremidades do corpo desses insetos e pelos órgãos dos sentidos localizados nos sistemas motor e sensorial (Cruz-Landim, 2009). Vale ressaltar que os órgãos dos sentidos são bem desenvolvidos e são representados pelas sensilas, órgãos timpânicos, antenas, ocelos e olhos compostos (Menzel e Mercer, 1987).

O complexo sistema nervoso, juntamente com a pequena dimensão e as altas taxas reprodutivas fazem dos insetos ótimos organismos modelos. As abelhas, por exemplo, possuem alta capacidade cognitiva, de aprendizagem e memorização que, aliadas ao comportamento social de algumas espécies, tornam esses insetos excelentes modelos neurobiológicos (Roat e Cruz-Landim, 2011). Abelhas forrageiras, por exemplo, aprendem cores, odores, a posição de flores ricas em néctar e utilizam essas informações para aperfeiçoar o seu forrageamento (Galizia, 2007). Essa alta capacidade de aprendizagem está relacionada à forma como o sistema nervoso está estruturado.

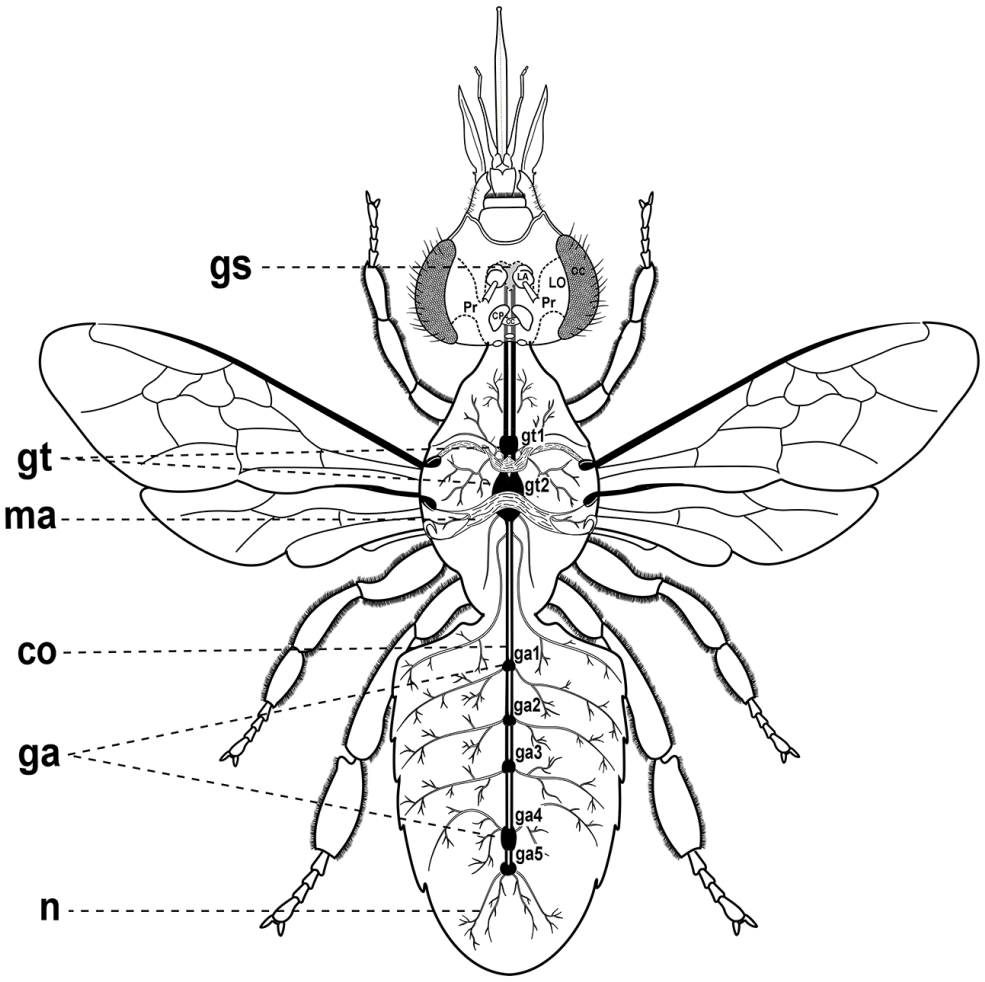

Figura 1. Modelo ilustrando o SNC de *Apis mellifera*, evidenciando o cérebro e a cadeia nervosa ventral. Cabeça - CC: corpo central, CP: corpo pedunculado, gs: gânglio subesofageano, LA: lobo antenal, LO: lobo óptico, OC: olho composto, Pr: protocérebro. Tórax – gt: gânglio torácico, gt1: gânglio torácico 1, gt2: gânglio torácico 2, ma: músculo alar. Abdômen – co: conectivos, ga: gânglio abdominal, ga1: gânglio abdominal 1, ga2: gânglio abdominal 2, ga3: gânglio abdominal 3, ga4: gânglio abdominal 4, ga5: gânglio abdominal 5, n: nervos.

Cérebro

O cérebro das abelhas tem volume médio de 1 mm^3, cerca de 960.000 neurônios e, apesar do tamanho, esses insetos dispõe de um vasto repertório comportamental e organizacional, uma vez que possuem capacidade de percepção do ambiente atribuída a captação de informações e ao processamento cerebral (Menzel e Giurfa, 2001; Horridge, 2006). Exemplos disso são as navegações a longas distâncias utilizando referências como indicadores, sua extrema eficiência na memorização e aprendizagem ao inspecionar possíveis locais de nidificação e forrageamento e as capacidades sensoriais como identificação de cores e odores (Hammer e Menzel, 1995; Hammer, 1997; Menzel et al., 2006).

As regiões do cérebro que contém corpos celulares de neurônios são denominadas somata e as regiões contendo os prolongamentos celulares são denominadas neurópila (Brandt et al., 2005; Schröter e Menzel, 2003). Vale ressaltar que os neurônios são constituídos do corpo celular, onde localizam-se o núcleo e as organelas, e dos prolongamentos citoplasmáticos, denominados dendritos e axônios, e são classificados em sensoriais, motores e de associação, também denominado como interneurônio, já que se intercala entre os dois primeiros tipos de neurônios (Banerjee e Bharadwaj, 1974; Rehder, 1989; Kloppenburg, 1995; Brandt et al., 2005). Os interneurônios apresentam complexa organização e estão localizados principalmente nos corpos pedunculados, estruturas pertencentes ao protocérebro (Menzel e Giurfa, 2001).

Como mencionado anteriormente, em abelhas adultas o cérebro é bilobado e constituído pelos gânglios supraesofágico e subesofágico. O gânglio supraesofágico é formado pela fusão de três gânglios: o protocérebro, o deutocérebro e o tritocérebro (Bicker et al., 1987) (Figura 2b), que serão detalhados a seguir.

Roat e Cruz-Landim (2010) estudaram as diferenças morfológicas do cérebro de operárias, rainhas e zangões de *A. mellifera* associadas ao comportamento de cada indivíduo. Nos zangões, o protocérebro é mais desenvolvido devido ao maior tamanho dos lobos ópticos, uma vez que eles não participam da organização social, mas precisam de uma visão aguçada para o acasalamento. Nas rainhas, as autoras descrevem apenas maior quantidade de células neurosecretoras, as quais produzem hormônios reguladores do comportamento reprodutivo. Nas operárias, entretanto, os corpos pedunculados são mais desenvolvidos, apresentando maior profundidade e muitos pontos convergentes para o pedúnculo indicando a presença de muitas sinapses (Roat e Cruz-Landim, 2005; Roat e Cruz-Landim, 2008; Roat e Cruz-Landim, 2010).

Protocérebro

O protocérebro é constituído por dois lobos, os quais ocupam grande parte do cérebro, que são unidos na região central pela ponte cerebral, ou *pons cerebralis*. Lateralmente, o protocérebro é continuado por dois lobos ópticos, sendo que um localiza-se do lado esquerdo e um do lado direito (Brandt et al., 2005). Quanto à composição celular, o protocérebro é constituído de uma grande quantidade emaranhada de neurópila na região central, que são identificadas por tratos interneuronais (vias neurais) e de uma somata na região periférica, caracterizada por subcompartimentos densos e compactados formados por arborizações sobrepostas de neurônios que partem dos lobos antenais, lobos ópticos e dos corpos pedunculados (Rybak, 2012). O protocérebro divide-se em *pons cerebralis*, complexo ou corpo central, os *corpora pedunculata*, *pars intercerebralis* e lobos ópticos (Brandt et al., 2005; Cruz-Landim 2009) (Figura 2a e 2c).

A *pons cerebralis*, ou ponte cerebral, é basicamente uma grande quantidade de prolongamentos nervosos (massa de neurópila) responsáveis pela conexão e comunicação entre os lobos esquerdo e direito do protocérebro (Cruz-Landim, 2009). De acordo com estudo de Homberg (1984), foram encontrados quarenta e seis neurônios que inervam a *pons cerebralis*, tanto na região superior quanto na região inferior. Destes, cerca de 65% dos neurônios respondeu a um estímulo da antena (odor e estímulos táteis), 56% a estímulos de luz e 50% a estímulos mecânicos no tórax ou no abdômen.

O complexo ou corpo central também se constitui de uma elevada quantidade de prolongamentos nervosos, ou seja, uma massa de neurópila, e encontra-se disposto em dois corpos no formato de semicírculo acima da *pons cerebralis* (Hensgen, 2020). Apesar de responderem fracamente a estímulos visuais e a estímulos mecânicos das antenas ou do abdômen, estudos eletrofisiológicos e de modelagem computacional apontam que o complexo central exerce papel importante na orientação espacial guiada pelo céu em abelhas (Held et al., 2016; Stone et al., 2017).

Os *corpora pedunculata* ou corpos pedunculados, também conhecidos como corpos em forma de cogumelo (do inglês mushroom bodies), são estruturas pares constituídas cada uma de duas massas de neurópilas em forma de taça ou cálice, de onde partem dois pedúnculos que se unem na base (Figura 2a e 2c) (Heisenberg, 1998). Os denominados lábios correspondem à borda do cálice, o colar corresponde às paredes do cálice e o anel basal corresponde ao fundo do cálice (Strausfeld, 2002). Do anel basal partem os pedúnculos, sendo o mais externo designado β e o mais interno α (Menzel et al., 1994). Os cálices são preenchidos pelos corpos celulares de neurônios, chamados células de Kenyon, que são diferenciadas em compactas internas, não compactas e compactas externas de acordo com a localização e com a quantidade de citoplasma em relação ao núcleo (Fahrbach, 2006; Roat e Cruz-Landim, 2011). Os corpos pedunculados estão relacionados com a plasticidade comportamental das abelhas, uma vez que são centros de integração e processamento de informações olfativas, visuais, gustatórias e mecanossensoriais (Komischke et al., 2005; Kiya et al., 2007).

A *pars intercerebralis*, também conhecida como *pars intermedia*, é constituída por somata de neurônios e disposta entre os corpos pedunculados. Além de conectar-se com os ocelos através de prolongamentos neuronais, a região da *pars intercerebralis* também possui células neurosecretoras de onde partem os prolongamentos neu-

ronais para os corpos cardíacos, gânglios pertencentes ao sistema estomogástrico (Cruz-Landim, 2009).

As abelhas apresentam duas estruturas relacionadas a fotorrecepção: os olhos compostos e os ocelos. Os olhos compostos, também denominados lobos ópticos, são constituídos de uma complexa estrutura de elementos nervosos e celulares como, por exemplo, os omatídeos que são as células com formato hexagonal que constituem os olhos. Além disso, cada omatídeo possui nove células fotorreceptoras, as quais são divididas em células S, M e L, para curto, médio e longo alcance de comprimentos de onda, respectivamente (Mota et al., 2011). Ainda, os lobos ópticos possuem três massas de neurópila, denominadas (de fora para dentro) lâmina, medula e lóbulo (Antonio e Hartfelder, 2006). Entre o lóbulo e a medula localiza-se o quiasma interno e entre a medula e a lâmina localiza-se o quiasma externo. Os quiasmas caracterizam-se pelo cruzamento de axônios entre duas massas de neurópila (Kenyon, 1986; Almeida Rossi, 2013). Paulk et al. (2009) demonstraram em seu estudo que a sensibilidade pelas cores captadas pelos lobos ópticos são principalmente segregadas para as laterais do protocérebro, indicando que a informação visual é transformada a partir da retina para o protocérebro.

Os ocelos localizam-se no topo da cabeça das abelhas e, em operárias, cada um dos três ocelos formam um triângulo equilátero, enquanto em zangões eles distinguem-se por serem mais largos e próximos (Cruz-Landim, 2009; Ribi et al., 2011). Eles são compostos, de fora para dentro, de uma lente convexa, uma camada de células vítreas, também denominadas células córneas e por uma camada retinular (Toh e Kuwabara, 1974). Ribi et al. (2011) verificaram que as células da camada retinular são extremamente sensíveis ao plano de polarização da luz e que sua função estaria relacionada a orientação do voo das abelhas.

Corpos Pedunculados

Como já citado anteriormente, as células de Kenyon são os elementos principais dos corpos pedunculados, uma vez que ditam sua anatomia e fisiologia (Heisenberg, 1998). As abelhas possuem aproximadamente 17.000 células de Kenyon em cada corpo pedunculado e cerca de 14.000 fora de cada cálice (Fahrbach, 2006). Uma típica célula de Kenyon se estende em fibras finas que se dividem para formar um dendrito com arborizações no cálice dos corpos pedunculados e um ramo de axônios que se divide novamente, dando origem a novas arborizações que se separam em duas neurópilas, formando os lobos associados ao cérebro (Brandt et al., 2005; Fahrbach, 2006). Normalmente, as células de Kenyon são visualizadas heterogeneamente, entretanto, subdivisões têm sido feitas baseadas na morfologia das arborizações no cálice e suas projeções para os lobos do protocérebro, na imunoreatividade, no padrão de expressão gênica e no diâmetro da somata (Fahrbach, 2006). Nas abelhas, as subdivisões celulares refletem o padrão da neurogênese: células de Kenyon compactas externas são produzidas primeiro e localizam-se na borda do cálice ou lábios, seguidas pelas células de Kenyon não compactas internas que localizam-se na parede do cálice ou colar e, por último, as compactas internas, as quais localizam-se no interior no cálice ou mais comumente chamado de anel basal (Farris et al., 1999; Fahrbach, 2006; Roat e Cruz-Landim, 2011).

De acordo com análises ultra estruturais das células de Kenyon durante a metamorfose, Roat e Cruz-Landim (2011) observaram que as células compactas internas apresentam núcleo menor, porém evidente, uma cromatina condensada, nucléolo evidente, citoplasma delgado contendo diversas mitocôndrias, aparelho de Golgi e poucos perfis de retículo endoplasmático granuloso em relação as demais subpopulações de células. Já as células não compactas apresentam núcleo grande, maior quantidade de citoplasma e a presença das mesmas organelas descritas para o subtipo anterior. As células compactas externas são intermediárias em seu tamanho, apresentam núcleo e citoplasma maiores que os das células compactas internas, porém menores que os das células não compactas, além de possuírem aparelho de Golgi mais desenvolvido e um retículo endoplasmático com mais perfis.

Os corpos pedunculados recebem informações de diferentes áreas do cérebro, os estímulos visuais e olfativos, por exemplo, são largamente segregados no cálice, sendo os olfativos segregados na borda do cálice denominada lábio, e os visuais nas paredes do cálice, denominadas colar e ambos no anel basal (Gronenberg, 2001). Os estímulos visuais são bilaterais no cérebro dos himenópteros, em contraste, os olfativos são sempre unilaterais (Gronenberg, 2001).

De acordo com Paulk e Gronenberg (2008), as células nervosas responsáveis pela transmissão de sinais visuais aos corpos pedunculados são capazes não só de captar sinais de cores e informações de movimentos, como também sinalizar aspectos temporais dos estímulos, expandindo o repertório funcional dos corpos pedunculados. Segundo os mesmos autores, se uma quantidade de processamento visual elevada ocorrer a nível do lobo óptico, então o corpo pedunculado pode receber informações sobre as características do ambiente e não apenas a identificação da presença de uma cor, ou seja, recebe-se combinações de cores, movimentos e de objetos específicos, sejam eles conhecidos ou não.

No que diz respeito ao olfato, pode-se citar um neurônio particularmente notável no cérebro das abelhas, o VUMmx1, que têm sua origem no gânglio subesofágico. Ele inerva o glomérulo do lobo antenal, a lateral do protocérebro, os lábios e o anel basal do cálice dos corpos pedunculados, ou seja, os estímulos olfatórios recebidos pelas antenas são segregados ao longo do SNC até o cérebro das abelhas, onde são processados (Menzel et al., 1994). A atividade deste neurônio está envolvida com a recompensa alimentar em associação ao olfato (Menzel e Giurfa, 2001). Guerrieri et al. (2005) demonstraram em seus estudos que todos os odores apresentados às abelhas através de experimentos de odor-recompensa (REP: reflexo de extensão da probóscide) poderiam ser aprendidos e posteriormente memorizados. No estudo, o nível de aprendizado variou de acordo com o grupo funcional do

líquido que foi apresentado às abelhas e com o comprimento da cadeia de carbono presente nos produtos, sendo que a cadeia curta de cetonas apresentou menor poder de aprendizado nos insetos. Ainda no que diz respeito ao olfato, Hourcade et al. (2010) demonstraram em seus estudos mudanças na densidade glomerular do cálice dos corpos pedunculados de acordo com a memória olfativa de abelhas tratadas no sistema odor-recompensa. A neuroplasticidade nos corpos pedunculados ocorreu apenas nos lábios do cálice, ou seja, na região responsável pelo olfato. A região responsável pela visão, o colar, não foi alterada. Estudos como os de Guerrieri et al. (2005) e de Hourcade et al. (2010) envolvendo olfato e visão e a projeção desses dois sentidos ao nível cerebral reafirmam a capacidade de aquisição e armazenamento de novas informações pelas abelhas, ou seja, de memória e de aprendizagem.

Outro aspecto bastante estudado e relacionado ao aprendizado, memória e socialização das abelhas é a mudança no volume dos corpos pedunculados relacionados à idade e a exposição ao ambiente, o que culmina na plasticidade comportamental. A exemplo disso, Farris et al. (2001) evidenciaram que há diferenças nas ramificações dendríticas das células de Kenyon entre as abelhas forrageiras e operárias que executam atividades intracoloniais, como as nutridoras. O tamanho e o número de ramificações nessas células são aumentados nas abelhas forrageiras, permitindo um maior contato entre as superfícies sinápticas das células nervosas, enriquecendo os estímulos sensoriais e fortalecendo a capacidade do cérebro. Ainda, de acordo com Barchuk et al. (2017) apesar de cérebros de abelhas forrageiras adultas não apresentarem neurogênese, estudos utilizando a impregnação pelo método de Golgi evidenciaram um maior espalhamento e alongamento dos dendritos do corpo pedunculado, confirmando alterações na estrutura desse tecido e sugerindo que tais alterações refletem os efeitos de memória e aprendizagem nesses indivíduos.

Roat et al. (2005) concluíram que estudos neurológicos em abelhas operárias se mostram mais vantajosos em relação a outros insetos, uma vez que, análises morfológicas do cérebro de operárias de *A. mellifera* africanizadas apresentaram um maior desenvolvimento dos corpos pedunculados, os quais apontaram evidências de maior quantidade de sinapses. A maior quantidade de sinapses dos corpos pedunculados das operárias explica a plasticidade comportamental desses indivíduos na manutenção da colônia em detrimento das demais castas, já que o estudo foi comparativo entre operárias, rainhas e zangões associados a diferenças comportamentais.

Deutocérebro

O deutocérebro é o segundo gânglio do cérebro e localiza-se ventralmente na região central. Esse gânglio é constituído basicamente de dois lobos laterais ao esôfago, denominados lobos antenais, que são responsáveis pelo processamento quimiosensorial (Figura 2a e 2c). Os lobos antenais são estruturas esféricas formadas de prolongamentos de neurônios sensitivos que recebem estímulos olfatórios captados pelos corpos celulares presentes nas antenas e nas estruturas da boca (Galizia e Rössler, 2010; Rybak, 2012). Estes prolongamentos neuronais se organizam em aproximadamente 150 glomérulos envolvidos por corpos celulares de neurônios motores que controlam o movimento das antenas (Kloppenburg, 1995). O cálice dos corpos pedunculados é um dos locais onde a informação neuronal do lobo antenal é expressa explicando a relação entre aprendizado e odores (Giurfa, 2007; Rybak, 2012; Giurfa, 2013).

Winnington et al. (1996) mostraram que os glomérulos dos lobos antenais sofrem constantes modificações durante a vida de uma abelha operária adulta. Por exemplo, o volume total da neurópila glomerular aumentou significativamente durante os primeiros 4 dias da vida adulta. Cinco dos glomérulos estudados exibiram mudanças no seu volume, sendo que para dois deles a mudança foi associada ao forrageamento.

Tritocérebro

O tritocérebro é o terceiro e menor gânglio do cérebro composto por um par de lobos localizados ventralmente aos lobos antenais e sob o deutocérebro. Estes lobos são ligados por uma comissura transversal que passa por baixo do esôfago. Do tritocérebro partem conectivos que fazem a ligação entre o cérebro e o gânglio subesofágico, e nervos motores e sensoriais que o ligam ao gânglio frontal pertencente ao sistema estomogástrico (Cruz-Landim, 2009).

De acordo com Mitchell et al. (1999) as sensilas gustativas presentes principalmente na boca e nas antenas, no caso das abelhas, estão ligadas diretamente a células nervosas que emitem estímulos tanto para o gânglio subesofágico, composto dos gânglios da mandíbula, maxila e lábios (Cruz-Landim, 2009), quanto para o tritocérebro. Sugerindo, portanto, que o tritocérebro, assim como o gânglio subesofágico, seja um centro primário gustativo e mecanosensorial em insetos.

Gânglio subesofágico

O gânglio subesofágico está posicionado no plano ventral e posterior ao cérebro e continuamente ao deutocérebro e ao tritocérebro. Além disso, o gânglio subesofágico está diretamente conectado com as peças bucais já que é constituído pelos gânglios da mandíbula, maxila e lábios, os quais recebem projeções sensoriais dos nervos das peças bucais (Rehder e Boycott, 1988; Cruz-Landim, 2009). Dois neurônios bem conhecidos do gânglio subesofágico, o VUM e o DUM inervam o cérebro das abelhas, sendo que o VUMmx1 inerva tanto os glomérulos dos lobos antenais, quanto o anel basal dos cálices dos corpos pedunculados e as laterais do protocérebro (Hammer, 1997; Menzel e Giurfa, 2001).

Em 2003 Schröter e Menzel descreveram o trato subesofágico do cálice, que conecta o gânglio subesofágico aos cálices do corpo pedunculado, indicando que os neurônios desse trato podem processar informações gustativas e mecanossensoriais das peças bucais. Ainda, experimentos realizados na mesma pesquisa mostraram que as projeções neuronais do trato subesofágico do cálice não se sobrepõem as projeções neuronais olfativas e visuais.

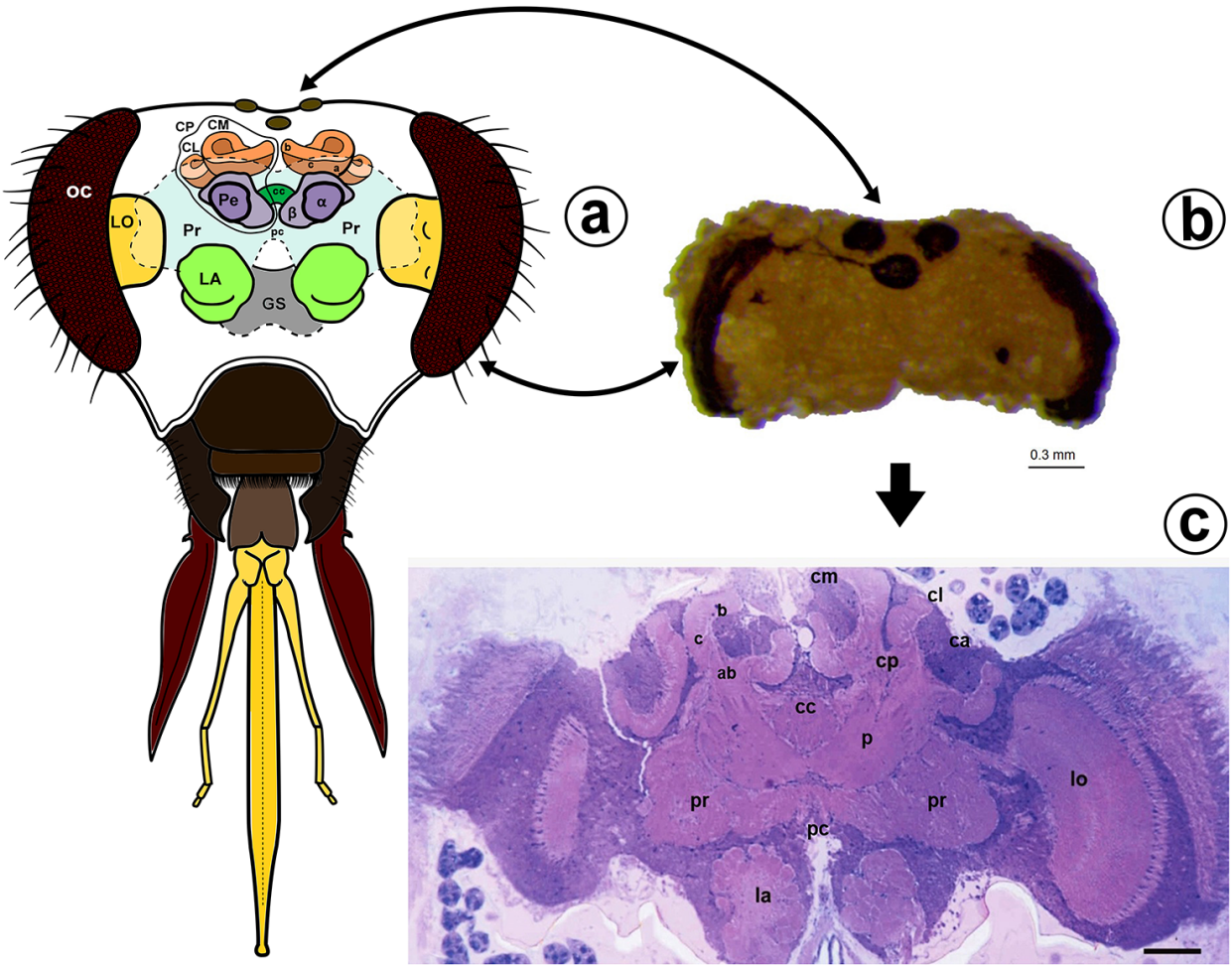

Figura 2. (a) Ilustração associando as diferentes estruturas morfológicas do cérebro da abelha *Apis mellifera* africanizada (adaptada de Brandt et al., 2005) ao (b) tecido nervoso dissecado e a (c) fotomicrografia de corte frontal do tecido (Thaisa Cristina Roat – acervo pessoal) (a) cc: corpo central, GS: gânglio subesofágico, LA: lobo antenal, LO: lobo óptico, OC: olho composto, Pr: protocérebro, pc: *pons cerebralis*, CP: corpo pedunculado (destacado com linha preta sólida à esquerda, com suas divisões indicadas) - CL: cálice lateral, CM: cálice medial, Pe: pedúnculo - (corpo pedunculado à direita com subdivisões indicadas) -, α: pedúnculo externo, β: pedúnculo interno, a: anel basal; b: borda, c: colar –, (c) lo: lobo óptico, pr: protocérebro, pc: *pons cerebralis*, la: lobo antenal, cc: corpo central, cp: corpo pedunculado (à direita indicações das divisões e à esquerda indicações das sub divisões dos corpos pedunculados) – ca: cálice, cm: cálice medial, cl: cálice lateral, p: pedúnculo, ab: anel basal, b: borda e c:colar. Entre as imagens a e b, a seta maior indica a correspondência dos ocelos no esquema 1a e no cérebro dissecado e a seta menor indica a correspondência dos olhos compostos no esquema 1a e no cérebro dissecado.

Sistema Estomogástrico

O sistema estomogástrico consiste em três gânglios: o gânglio frontal e dois gânglios hipocerebrais (Cruz-Landim, 2009). O gânglio frontal irradia nervos para o tritocérebro e para a *pars intercerebralis*, conectando-se, portanto, ao sistema nervoso central, para a faringe e para o esôfago. Já os gânglios hipocerebrais são ligados aos *corpora cardiaca*, órgãos neuroendócrinos que controlam a liberação hormonal, e ao intestino médio (Hartenstein, 1997; Boleli, 1998; Ayali, 2004).

As principais funções do sistema estomogástrico são controlar os movimentos peristálticos, uma vez que ele está ligado especialmente ao sistema digestório, e controlar o sistema endócrino já que os corpos cardíacos estão ligados aos gânglios hipocerebrais (Cruz-Landim, 2009).

Cadeia nervosa ventral

A cadeia nervosa ventral consiste em uma série de gânglios, os quais são formados por uma neurópila central e uma somata periférica, interligados entre si e ao cérebro por conectivos que desempenham importantes funções como andar e voar (Cruz-Landim, 2009). A cadeia nervosa ventral da abelha *A. mellifera* é constituída por oito gânglios sendo eles o subesofágico, localizado na cabeça, dois gânglios torácicos e cinco abdominais (Figura 1) (Banerjee e Bharadwaj, 1974).

Contudo, o número e a posição dos gânglios podem variar de acordo com a família, tribo, gênero, entre as castas de indivíduos da mesma espécie e a fase de vida em abelhas (Niven et al., 2007). O número de nervos que partem do gânglio permite a constatação de quantos gânglios foram fundidos, pois de cada gânglio simples parte apenas um par de nervos (Cruz-Landim, 2009). Alterações na posição e na fusão dos gânglios sugere que existem fortes evidências de custo/benefício relacionados ao melhor desempenho do indivíduo (Niven et al., 2007).

Considerações finais

Apesar de apresentarem tamanho corporal e, portanto, cerebral reduzido, o sistema nervoso central das abelhas é extremamente complexo. Tal complexidade está diretamente relacionada as diversas estruturas anatômicas interconectadas do SNC, as quais são responsáveis pelo vasto repertório organizacional e comportamental desses insetos, uma vez que tais estruturas apresentam grande especificidade em relação às funções desempenhadas e a capacidade de processar informações captadas do ambiente. Além disso, a anatomia e estrutura organizacional do SNC das abelhas viabilizam a capacidade cognitiva desses insetos como, por exemplo, a capacidade de aprendizagem e memorização, que levam ao aperfeiçoamento de atividades de forrageamento.

Pelo exposto, entender a anatomia e função do SNC das abelhas possibilita o entendimento de como possíveis desordens a nível anatômico podem afetar negativamente as atividades desses insetos, já que todas as estruturas anatômicas estão intimamente ligadas entre si para o correto funcionamento do sistema. Além disso, esse conhecimento pode auxiliar na compreensão dos impactos neurobiológicos causados pelos agrotóxicos e abrir portas para posteriores pesquisas como, por exemplo, o desenvolvimento de agrotóxicos que sejam seletivos, direcionados às estruturas exclusivas dos insetos que se deseja controlar ou, ainda, moléculas que não possuam receptores aos quais possam se ligar no sistema nervoso das abelhas.

Agradecimentos

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos, *Campus* Araras, onde fiz meu Trabalho de Conclusão de Curso, o qual gerou este artigo, à Hellen M. Soares, à Thaisa Cristina Roat, ao Ricardo Fujihara e ao Caio E. C. Domingues pela correção da primeira versão do manuscrito e ao Iago Bueno da Silva pela presteza e paciência na reformulação dos esquemas do SNC de *A. mellifera*. Finalmente agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão dos processos nº 2018/24245-6 e 2017/21097-3.

Referências

Almeida Rossi C, Roat TC, Tavares DA, Cintra-Socolowski P, Malaspina O. 2013. Brain morphophysiology of Africanized bee *Apis mellifera* exposed to sublethal doses of imidacloprid. Archives of environmental contamination and toxicology, 65(2):234-243.

Antonio DSM, Hartfelder K. 2016. Toward an Understanding of Divergent Compound Eye Development in Drones and Workers of the Honeybee (*Apis mellifera* L.): A Correlative Analysis of Morphology and Gene Expression. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution, 328B:139-156.

Ayali A. 2004. The insect frontal ganglion and stomatogastric pattern generator networks. Neurosignals, 13(1-2):20-36.

Azevedo P, Butolo NP, de Alencar LD, Soares-Lima HM, Sales VR, Malaspina O, Nocelli RCF. 2020. Standardization of in vitro nervous tissue culture for honeybee: A high specificity toxicological approach. Ecotoxicology and environmental safety, 189(110040).

Banerjee SK, Bharadwaj RK. 1974. The nervous system and muscle innervations of Apis cerana indica (Hymenoptera: Apidae). Journal of Natural History, 8(1):19-28.

Barchuk AR, Santos GD dos, Caneschi RD, de Paula Junior DE, Moda LMR. 2017. The ontogenic saga of a social brain. Apidologie, 49:32-48.

Brandt R et al. 2005. A three-dimensional average-shape atlas of the honeybee brain and its applications. Journal of Comparative Neurology, 492(1):1-19.

Brittain C, Potts SG. 2011. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. Basic and Applied Ecology, 12(4):321– 331.

Bicker G, Schäfer S, Rehder V. 1987. Chemical neuroanatomy of the honeybee brain. In: Neurobiology and Behavior of Honeybees (edited by Menzel R. e Mercer A.) p202–224.

Boleli IC, Paulino Simões ZL, Hartfelder K. 1998. The stomatogastric nervous system of the honey bee (*Apis mellifera*) in a critical phase of caste development. Journal of morphology, 236(2):139-149.

Butolo NP, Azevedo P, Alencar LDD, Domingues CE, Miotelo L, Malaspina O, Nocelli RCF. 2020. A high quality method for hemolymph collection from honeybee larvae. PloS one, 15(6):e0234637.

Catae AF, Roat TC, Pratavieira M, da Silva Menegasso AR, Palma MS, Malaspina O. 2018. Exposure to a sublethal concentration of imidacloprid and the side effects on target and nontarget organs of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). Ecotoxicology, 27(2):109-121.

Cham KDO, Rebelo RM, Oliveira RDP, Ferro AA, Vianasilva FDC, Borges LDO, Macedo TC. 2017. Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas. Brasília: Ibama/Diqua, 105.

Chmiel JA, Daisley BA, Pitek AP, Thompson GJ, Reid G. 2020. Understanding the Effects of Sublethal Pesticide Exposure on Honey Bees: A Role for Probiotics as Mediators of Environmental Stress. Frontiers in Ecology and Evolution, 8(22).

Concio CJH. 2019. Bees declared to be the most impotant living being on Earth. Recuperado em 09 de julho, 2019, de https://www.sciencetimes.com/articles/23245/20190709/bees-are-the-most-important-living-being-on-earth.htm.

Cruz-Landim C. 2009. Abelhas - Morfologia e Função de Sistemas. 1ª ed. São Paulo: Editora UNESP, 407 p.

Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delègue MH. 2004. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. Ecotoxicology and Environmental Safety , 57(3):410-419.

Decourtye A, Devillers J, Genecque E, Le Menach K, Budzinski H, Cluzeau S, Pham-Dele`gue MH. 2005. Comparative sub-lethal toxicity of nine pesticides

on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 48:242–250.

De Moraes RF. 2019. Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória TD 2506. Brasília: IPEA, 76.

Dietzch AC, Jütte T. 2020. Non-Apis bees as model organisms in laboratory, semi-field and field experiments. Journal für Kulturpflanzen, 72(5):162-172.

Edenfeld G, Stork T, Klämbt C. 2005. Neuron-glia interaction in the insect nervous system. Current opinion in neurobiology, 15(1):34-39.

European Food Safety Authority (EFSA) 2013. Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, Bombus spp. and solitary bees). EFSA Journal, 11(7):3295.

Fahrbach SE. 2006. Structure of the mushroom bodies of the insect brain. Annual Review of Entomology., 51:209-232.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2018. Unlocking the potential of agriculture innovation for family farmers - Thematic catalogue for smallholder farmers to promote innovation. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, 100p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2004. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture. The international response. In: Freitas BM, Pereira JOP (orgs) Solitary Bees: Conservation, Rearing and Management for Pollination, Imprensa Universitária: Fortaleza, p19-25.

Farris SM, Robinson GE, Davis RL, Fahrbach SE. 1999. Larval and pupal development of the mushroom bodies in the honey bee, *Apis mellifera*. Journal of Comparative Neurology, 414(1):97-113.

Farris SM, Robinson GE, Fahrbach SE. 2001. Experience-and age-related outgrowth of intrinsic neurons in the mushroom bodies of the adult worker honeybee. Journal of Neuroscience, 21(16):6395-6404.

Galizia CG, Rössler W. 2010. Parallel olfactory systems in insects: anatomy and function. Annual review of entomology, 55:399-420.

Galizia CG. 2007. Neuroscience: Brainwashing, honeybee style. Science, 317(5836):326-327.

Giannini TC, Cordeiro GD, Freitas BM, Saraiva AM, Imperatriz-Fonseca VL. 2015. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. Journal of Economic Entomology, 108(3):849-857.

Giurfa M. 2007. Behavioral and neural analysis of associative learning in the honeybee: a taste from the magic well. Journal of Comparative Physiology A, 193(8):801-824.

Giurfa M. 2013. Cognition with few neurons: higher-order learning in insects. Trends in neurosciences, 36(5):285-294.

Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray EL. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. Science, 347(6229).

Grab H, Branstetter MG, Amon N, Urban-Mead KR, Park MG, Gibbs J, Blitzer EJ, Poveda K, Loeb G, Danforth BN. 2019. Agriculturally dominated landscapes reduce bee phylogenetic diversity and pollination services. Science, 363(6424):282-284.

Gronenberg W. 2001. Subdivisions of hymenopteran mushroom body calyces by their afferent supply. Journal of Comparative Neurology, 435(4):474-489.

Guerrieri F, Schubert M, Sandoz JC, Giurfa M. 2005. Perceptual and neural olfactory similarity in honeybees. PLoS Biology, 3(4):e60.

Guez D, Belzunces LP, Maleszka R. 2003. Effects of imidacloprid metabolites on habituation in honeybees suggest the existence of two subtypes of nicotinic receptors differentially expressed during adult development. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 75:217-222.

Hähnlein I, Bicker G. 1997. Glial patterning during postembryonic development of central neuropiles in the brain of the honeybee. Development genes and evolution, 207(1):29-41.

Hammer M, Menzel R. 1995. Learning and memory in the honeybee. Journal of Neuroscience, 15(3):1617-1630.

Hammer M. 1997. The neural basis of associative reward learning in honeybees. Trends in neurosciences, 20(6):245-252.

Hartenstein V. 1997. Development of the insect stomatogastric nervous system. Trends in neurosciences, 20(9):421-427.

Heisenberg M. 1998. What do the mushroom bodies do for the insect brain? An introduction. Learning & Memory, 5(1):1-10.

Held M, Berz A, Hensgen R, Muenz TS, Scholl C, Rössler W, Pfeiffer K. 2016. Microglomerular synaptic complexes in the sky-compass network of the honeybee connect parallel pathways from the anterior optic tubercle to the central complex. Frontiers in behavioral neuroscience, 10(186).

Hensgen R, England L, Homberg U, Pfeiffer K. 2020. Neuroarchitecture of the central complex in the brain of the honeybee: neuronal cell types. Journal of Comparative Neurology,1-28.

Homberg U. 1984. Processing of antennal information in extrinsic mushroom body neurons of the bee brain. Journal of Comparative Physiology A, 154(6):825-836.

Horridge A. 2005. What the honeybee sees: a review of the recognition system of *Apis mellifera*. Physiological Entomology, 30(1):2-13.

Hourcade B, Muenz TS, Sandoz JC, Rössler W, Devaud JM. 2010. Long-term memory leads to synaptic reorganization in the mushroom bodies: a memory trace in the insect brain? Journal of Neuroscience, 30(18):6461-6465.

Imperatriz-Fonseca VL. 2004. Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização. São Paulo: USP.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). 2017. Nota técnica: Avaliação de risco de agrotóxicos para insetos poliniza-

dores e lacunas de conhecimento. Recuperado em 20 de julho, 2020, de https://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/nota-tecnica-avaliacao-de-risco-de-agrotoxicos-pdf/view.

Kearns C, Inouye DW. 1997. Pollinators, flowering plants, and conservation biology. Much remains to be learned about pollinators and plants. Bioscience, 47(3):297-307.

Keller E. 2019. Nervous system of a honey bee illustration. Recuperado em 20 de junho, 2020, de https://www.bloopatone.com/projects/nQ20Yr.

Kenyon FC. 1896. The brain of the bee. A preliminary contribution to the morphology of the nervous system of the Arthropoda. Journal of Comparative Neurology, 6(3):133-210.

Kiljanek T, Niewiadowska A, Posyniak A. 2016. Pesticide poisoning of honeybees: a review of symptoms, incident classification, and causes of poisoning. Journal of Apicultural Science, 60(2):5-24.

Kiya T, Kunieda T, Kubo T. 2007. Increased neural activity of a mushroom body neuron subtype in the brains of forager honeybees. Plos One, 2(4):371.

Kloppenburg P. 1995. Anatomy of the antennal motoneurons in the brain of the honeybee (*Apis mellifera*). Journal of Comparative Neurology, 363(2):333-343.

Komischke B, Sandoz J-C, Malun D, Giurfa M. 2005. Partial unilateral lesions of the mushroom bodies affect olfactory learning in honeybees *Apis mellifera* L. European Journal of Neuroscience, 21(2):477-485.

Kremen C. 2005. Managing ecosystem services: what do we need to know about their ecology? Ecology letters, 8(5):468-479.

Lima MCD, Rocha SDA. 2012. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil. Brasília: Ibama.

Lu C, Hung YT, Cheng Q. 2020. A Review of Sub-lethal Neonicotinoid Insecticides Exposure and Effects on Pollinators. Current Pollution Reports, 1-15.

Medrzycki P, Montanari R, Bortolotti L, Sabatini AG, Maini S, Porrini C. 2003. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Bulletin of Insectology, 56(1):59-62.

Menzel R, Mercer AR (eds). 1987. Neurobiology and behaviour of honey bees. Berlin, Germany: Springer-Verlag p310.

Menzel R, Durst C, Erber J, Eichbaum S. 1994. The mushroom bodies in the honeybee: from molecules to behaviour. Fortschritte der zoologie, 39:81-81.

Menzel R, Giurfa M. 2001. Cognitive architecture of a mini-brain: the honeybee. Trends in cognitive sciences, 5(2):62-71.

Menzel R, Leboulle G, Eisenhardt D. 2006. Small brains, bright minds. Cell, 124(2):237-239.

Mitchell BK, Itagaki H, Rivet MP. 1999. Peripheral and central structures involved in insect gustation. Microscopy research and technique, 47(6):401-415.

Mota T, Yamagata N, Giurfa M, Gronenberg W, Sandoz JC. 2011. Neural organization and visual processing in the anterior optic tubercle of the honeybee brain. Journal of Neuroscience, 31(32):11443-11456.

Niven JE, Graham CM, Burrows M. 2008. Diversity and evolution of the insect ventral nerve cord. Annual review of entomology, 53:253-271.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 1998. Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2). Recuperado em 30 de junho, 2020, de https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-213-honeybees-acute-oral-toxicity-test_9789264070165-en.

Oland LA, Tolbert LP. 2003. Key interactions between neurons and glial cells during neural development in insects. Annual review of entomology, 48(1):89-110.

Oliveira RA, Roat TC, Carvalho SM, Malaspina O. 2014. Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenopptera: Apidae). Environmental Toxicology, 29(10):1122-1133.

Paulk AC, Gronenberg W. 2008. Higher order visual input to the mushroom bodies in the bee, Bombus impatiens. Arthropod structure & development, 37(6):443-458.

Paulk AC, Dacks AM, Phillips-Portillo J, Fellous JM, Gronenberg W. 2009. Visual processing in the central bee brain. Journal of Neuroscience, 29(32):9987-9999.

Rehder V, Boycott BB. 1988. A neuroanatomical map of the suboesophageal and prothoracic ganglia of the honey bee (*Apis mellifera*). Proceedings of the Royal society of London. Series B. Biological sciences, 235(1279):179-202.

Rehder V. 1989. Sensory pathways and motoneurons of the proboscis reflex in the suboesophageal ganglion of the honey bee. Journal of Comparative Neurology, 279(3):499-513.

Ribi W, Warrant E, Zeil J. 2011. The organization of honeybee ocelli: Regional specializations and rhabdom arrangements. Arthropod structure & development, 40(6):509-520.

Roat TC, Nocelli RCF, Landim CC. 2005. Comparative study of the brain of workers, queens and males of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Anais do XX Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanalise. Brazilian Journal of Morphological Sciences, Águas de Lindóia, SP, Brasil.

Roat TC, da Cruz Landim C. 2008. Temporal and morphological differences in post-embryonic differentiation of the mushroom bodies in the brain of workers, queens, and drones of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). Micron, 39(8):1171-1178.

Roat TC, da Cruz Landim C. 2010. Differences in mushroom bodies morphogenesis in workers, queens and drones of *Apis mellifera*: Neuroblasts proliferation and death. Micron, 41(4):382-389.

Roat TC, da Cruz-Landim C. 2011. Differentiation of the honey bee (*Apis mellifera* L.) antennal lobes during metamorphosis: a comparative study among castes and sexes. Animal Biology, 61(2):153-161.

Rybak J, Kuss A, Lamecker H, Zachow S, Hege H, Lienhard M, Singer J, Neubert K, Menzel R. 2010. The

digital bee brain: integrating and managing neurons in a common 3D reference system. Frontiers in Systems Neuroscience, 4:30.

Rybak J. 2012. The digital honey bee brain atlas. In: Honeybee Neurobiology and Behavior. Dordrecht: Springer, p. 125-140.

Selvaraj R, Schmidling N, Ryner A. 2020. Hives. Recuperado em 16 de julho, 2020, de https://digitalcommons.imsa.edu/slx/2020/socent/11/.

Schröter U, Malun D, Menzel R. 2007. Innervation pattern of suboesophageal ventral unpaired median neurones in the honeybee brain. Cell and tissue research, 327(3):647-667.

Schröter U, Menzel R. 2003. A new ascending sensory tract to the calyces of the honeybee mushroom body, the subesophageal-calycal tract. Journal of Comparative Neurology, 465(2): 168-178.

Strausfeld NJ. 2002. Organization of the honey bee mushroom body: representation of the calyx within the vertical and gamma lobes. Journal of Comparative Neurology, 450(1):4-33.

Stone T, Webb B, Adden A, Weddig NB, Honkanen A, Templin R, Heinze S. 2017. An anatomically constrained model for path integration in the bee brain. Current Biology, 27(20): 3069-3085.

Toh Y, Kuwabara M. 1974. Fine structure of the dorsal ocellus of the worker honeybee. Journal of Morphology, 143(3):285-305.

Uhl P, Brühl CA. 2019. The impact of pesticides on flower-visiting insects: A review with regard to European risk assessment. Environmental toxicology and chemistry, 38(11):2355-2370.

Winnington AP, Napper RM, Mercer AR. 1996. Structural plasticity of identified glomeruli in the antennal lobes of the adult worker honey bee. Journal of Comparative Neurology, 365(3):479-490.