



Desenvolvimento de Modelos Computacionais para Avaliação Preditiva de Ecotoxicidade em Abelhas: Desafios Atuais

Josiel Araújo Lemes ¹
José Elias Flosino Sousa ²
Kamila Siqueira Pereira ³
Bruno Francisco Cardoso de Lacerda ⁴
Kamyla Cristina Barbosa Araújo ⁵
Josana de Castro Peixoto ⁶
Lucimar Pinheiro Rosseto ⁷
Hamilton Barbosa Napolitano ⁸
Bruno Junior Neves ⁹

RESUMO

Os produtos químicos perigosos, especialmente os agrotóxicos e produtos químicos industriais, vem sendo considerados responsáveis por uma queda dramática no número das abelhas. Conseqüentemente, a avaliação de risco ecológico de novos produtos químicos é vital e necessária. Uma vez que os ensaios experimentais em abelhas são caros, demorados e apresentam um problema ético, existe uma necessidade muito urgente de desenvolver métodos alternativos para avaliar a ecotoxicidade em abelhas. Na presente revisão, nós apresentamos os principais avanços tecnológicos utilizados para identificar e filtrar com segurança, compostos potencialmente tóxicos para abelhas. Em seguida, nós destacamos os principais esforços e armadilhas na integração, preparo e padronização de dados necessários para construção de modelos computacionais e sugerimos roteiros que possam contribuir para otimizar os resultados da pesquisa e conduzir a construção de modelos computacionais mais eficientes e preditivos.

Palavras-Chave: Polinizadores; Toxicologia Computacional; Inteligência Artificial; Modelagem Preditiva.

¹ Mestrado em andamento em Ciências Ambientais pelo Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil. josielpo@hotmail.com

² Mestrado em Ciências Moleculares pela Universidade Estadual de Goiás, UEG, Brasil. Docente no Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil. zelao1000@gmail.com

³ Graduação em andamento em Agronomia pelo Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil. kamilasiqueira.wicca@hotmail.com

⁴ Mestrado em andamento em Ciências Ambientais pelo Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil. lacerdaedu80@hotmail.com

⁵ Graduação em andamento em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil. kamyla_araujo1@hotmail.com

⁶ Doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Goiás, UFG, Brasil. Docente no Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil.; e na Universidade Estadual de Goiás, UEG, Brasil. josana.peixoto@gmail.com

⁷ Doutorado em Ciências pela Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil. Docente no Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil. luccimar.pinhoiro@yahoo.com.br

⁸ Doutorado em Física Biomolecular pela Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Docente no Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil.; e na Universidade Estadual de Goiás, UEG, Brasil. hbnapolitano@gmail.com

⁹ Doutorado em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Goiás, UFG, Brasil. Docente no Centro Universitário de Anápolis, UniEVANGÉLICA, Brasil.; e na Universidade Federal de Goiás, UFG, Brasil. bruno.labmol@gmail.com

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

As abelhas ocupam a posição de destaque dentre os grupos de maior importância para a manutenção da biodiversidade, uma vez que elas fornecem serviços ecológicos vitais como polinizadoras (Vieira et al. 2008). Estima-se que 40% dos polinizadores existentes sejam abelhas, as quais se distribuem em 40.000 espécies diferentes. Estudos sobre a ação destes insetos no meio ambiente evidenciam sua extraordinária contribuição para o aumento da produção de frutos e sementes consumidos por grande número animais (Cajá et al. 2015). Os serviços de polinização destes insetos não se restringem apenas as plantas silvestres. Cerca de 70% das plantas cultivadas, que são utilizadas diretamente para o consumo humano, têm aumento de produção em consequência da polinização promovida principalmente por abelhas (Klein et al. 2007). A polinização de áreas agrícolas depende tanto das espécies domesticadas quanto das populações de abelhas silvestres (Pires et al. 2016). Dentre as espécies mais importantes, a *Apis mellifera* L. têm sido as mais utilizadas em todo o mundo para a polinização de plantas cultivadas, em razão de seu fácil manejo, tamanho de suas colônias, sua abundância em diferentes ecossistemas e seu perfil generalista na busca de recursos (Pires et al. 2016).

Todavia, a expansão das áreas de produção agricultura e intensificação do uso de agrotóxicos têm ameaçado a biodiversidade e os serviços ecossistêmicos prestados pelas abelhas (Tylianakis 2013). Estes produtos podem entrar na cadeia solo-água-plantas, representando uma perigosa fonte direta e indireta de contaminação para as abelhas e outros seres vivos. Durante os voos de forrageamento, ou enquanto as abelhas coletam néctar, pólen, resinas de plantas ou ingerem néctar e água, estes insetos, inadvertidamente, entram em contato com uma grande variedade de substâncias tóxicas como fungicidas, herbicidas, inseticidas, bactericidas e outros produtos químicos industriais (Blacquièrre et al. 2012; Fairbrother et al. 2014; Pettis et al. 2013). Face ao exposto, o objetivo desta revisão é apresentar os principais avanços e tecnologias para a avaliação de ecotoxicidade de agrotóxicos em abelhas.

AValiação de Ecotoxicidade em Abelhas

O uso de agrotóxicos nas lavouras é justificado pelos seus efeitos letais no combate às pragas e patógenos. Todavia, o seu uso tem causado um declínio drástico da quantidade de polinizadores silvestres e domesticados, com reduções registradas no número de espécies e nos serviços de polinização em diferentes regiões do globo (vanEngelsdorp e Meixner 2010; van der Zee et al. 2012; Cameron et al. 2011; Pettis et al. 2013). Além de produzir efeitos letais, estes produtos químicos perigosos acabam sendo carregados para a colônia, onde eles podem induzir efeitos subletais para toda a colmeia, tais como: alteração do perfil de atividade enzimática, modulação da função imune, interferência na divisão de trabalho da colmeia, diminuição da longevidade do enxame, interferência na

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

comunicação e aprendizado, diminuição da atividade de forrageamento, diferenças nas proporções sexuais de prole e comportamento de oviposição (vanEngelsdorp et al. 2010; Alaux et al. 2010; Pettis et al. 2012; Wu et al. 2012; Desneux, Decourtye, e Delpuech 2007; Wu, Anelli, e Sheppard 2011; Whitehorn et al. 2012; Eiri e Nieh 2016; Gregorc et al. 2012).

Observadas estas características, a avaliação prévia de ecotoxicidade de agrotóxicos em abelhas deve ser considerada como um pré-requisito obrigatório para o planejamento de novos candidatos a agrotóxicos com baixo risco de toxicidade ambiental e pelos órgãos reguladores durante o processo de registro do uso de novos produtos. Para obter o registro no Brasil, todo agrotóxico deve passar pela avaliação de três órgãos do governo federal: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (Sarney et al. 1989). Dentre os órgãos qualificados, fica designado ao IBAMA a avaliação do risco ambiental destas substâncias em organismos aquáticos e terrestres, tais como abelhas (Cardoso et al. 2002; Martins 1996).

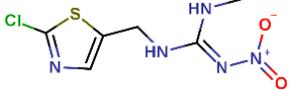
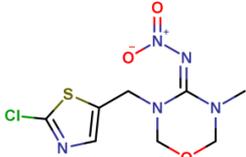
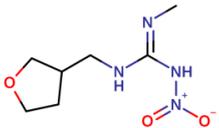
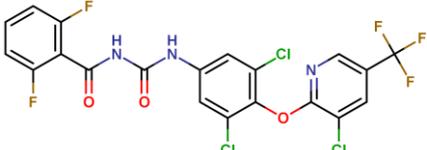
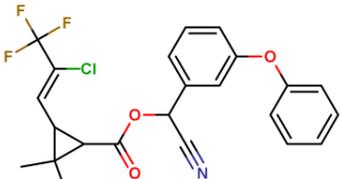
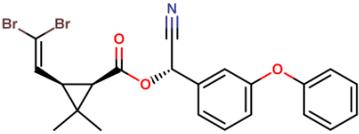
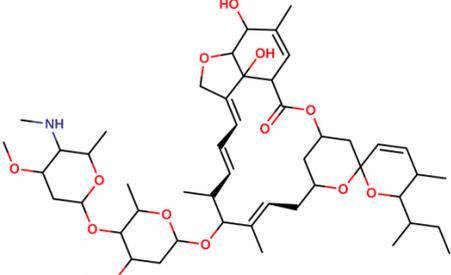
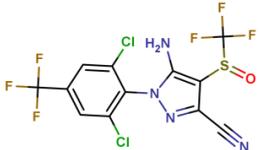
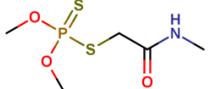
Embora todo agrotóxico tenha que ser submetido a avaliação de ecotoxicidade em abelhas previamente ao seu registro, diversos produtos tóxicos, em especial os inseticidas, são aprovados para uso no Brasil. Na Tabela 1, estão representados dez inseticidas de diversas classes químicas que são extremamente tóxicos para *A. mellifera* L. Além disso, todos eles, exceto a clotianidina e cialotrina (classe III: perigoso para o meio ambiente), tem restrição de aplicação em áreas de visitação de abelhas.

Atualmente, o método padrão para avaliação de ecotoxicidade em abelhas é a determinação da dose e/ou concentração que induz a morte de 50% de uma população de abelhas (DL₅₀ e CL₅₀, respectivamente). Os ensaios podem ser conduzidos utilizando os protocolos estabelecidos pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 1998) e o IBAMA (Ministério do Meio Ambiente 2017), os quais determinam que os produtos químicos sejam aplicados por via oral ou tópica e a mortalidade registrada após 24 e/ou 48 horas de exposição. Os compostos que apresentam DL₅₀ ou CL₅₀ inferior a 2 µg/abelha são considerados extremamente tóxicos às abelhas (Johansen e Mayer 2013). Entretanto, os resultados obtidos neste ensaio são sensíveis a diversos parâmetros, tais como a variabilidade genética e idade da população de abelhas testada, variações climáticas, solubilidade do agrotóxico testado e via de exposição. Portanto, o desenvolvimento de novas tecnologias para auxiliar na investigação de ecotoxicidade de agrotóxicos em abelhas é altamente desejável.

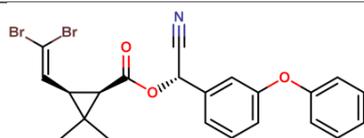
Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Tabela 1. Toxicidade aguda de diversas classes de inseticidas para *Apis mellifera* L.

Continua...

Estrutura química	Nome	Classificação de risco	Classe	LD ₅₀ (via de contaminação)	Citação
	clotianidina	classe III	neonicotinoides	0,0074 µg/abelha (via oral)	(Thompson et al. 2014)
	tiametoxam	classe II	neonicotinoides	0,0112 µg/abelha (via oral)	(Thompson et al. 2014)
	dinotefurano	classe II	neonicotinoides	0,0076 µg/abelha (via oral)	(U.S. Environmental Protection Agency 1993)
	clorfluazuron	classe I	benzoiluréias	0,00019 µg/abelha (via tópica)	(U.S. Environmental Protection Agency 1993)
	cialotrina	classe III	piretróides	0,038 µg/abelha (via tópica)	(U.S. Environmental Protection Agency 1993)
	deltametrina	classe II	piretróides	0,0015 µg/abelha (via tópica)	(U.S. Environmental Protection Agency 1993)
	emamectina	classe II	avermectinas	0,003 µg/abelha (via tópica)	(U.S. Environmental Protection Agency 1993)
	fipronil	classe II	pirazóis	0,0038 µg/abelha (via tópica)	(Xiqing Li et al. 2010)
	dimetoato	classe II	organofosforados	0,191 µg/abelha (via tópica)	(Atkins e Kellum 1986)

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves



deltametrina

classe II

piretróides

0,0015
µg/abelha
(via tópica)

(U.S.
Environmental
Protection
Agency 1993)

Fonte: Autores.

Classe I: altamente perigoso ao meio ambiente; Classe II: muito perigoso ao meio ambiente; Classe III: perigoso ao meio ambiente; e Classe IV: pouco perigoso ao meio ambiente.

TOXICOLOGIA COMPUTACIONAL

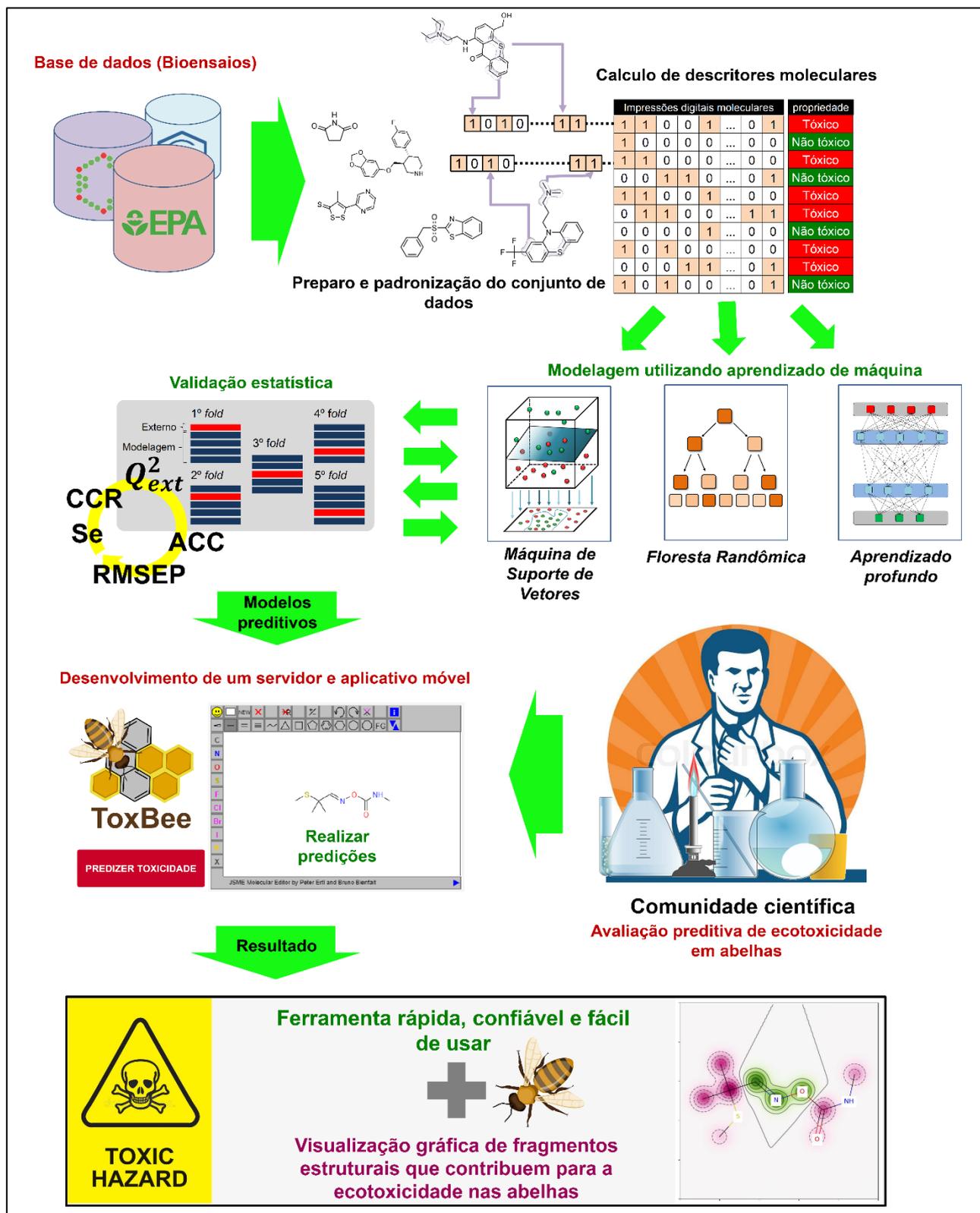
O desafio de avaliar a ecotoxicidade de agrotóxicos em abelhas ressoa fortemente com o uso métodos alternativos como as relações quantitativas entre estrutura química e toxicidade (QSTR, da sigla em inglês *Quantitative Structure-Toxicity Relationships*), que vem ganhando ampla atenção no campo da toxicologia computacional. Nos últimos dez anos, a abordagem de QSTR têm sido utilizadas para desenvolver modelos computacionais capazes de prever propriedades toxicológicas de forma custo-efetiva. Na seção 3.1 e 3.4 estão representadas as principais etapas e recomendações, respectivamente, para a construção, validação e aplicação de modelos QSTR na avaliação preditiva de ecotoxicidade em abelhas (Figura 1).

QSTR

Metodologicamente, a construção de modelos de QSTR pode ser representada como um processo constituído por várias etapas (Figura 1). Inicialmente, as estruturas químicas de todas as moléculas de um conjunto de dados são padronizadas e convertidas em descritores moleculares (variáveis independentes, ver explicação na seção 3.2). Em seguida, métodos de aprendizado de máquina (ver explicação seção 3.3) são utilizados para estabelecer relações quantitativas entre os descritores moleculares e os valores de propriedade toxicológica (variável dependente) de cada composto. Esta etapa envolve a descoberta empírica de uma função que irá estabelecer pesos aos descritores moleculares, ajustando-os a equação $P_t = k' (D_1, D_2, \dots, D_n)$, na qual P_t é a propriedade toxicológica das moléculas, D_1, D_2, \dots, D_n são os descritores moleculares, e k' é um peso estabelecido empiricamente pelo algoritmo selecionado (Tropsha 2010; Cherkasov et al. 2014). Em seguida, a preditividade do modelo deve ser estimada utilizando métricas estatísticas apropriadas, as quais irão avaliar sua habilidade em prever corretamente a toxicidade de compostos avaliados experimentalmente (Golbraikh e Tropsha 2002; Tropsha 2010). Uma vez validado, o modelo de QSTR gerado representa uma ferramenta inestimável para a priorização de novos produtos químicos em estágios de desenvolvimento assim como para a reavaliação preditiva de ecotoxicidade de produtos aprovados (Cherkasov et al. 2014).

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Figura 1. Fluxograma geral do processo de construção, validação e utilização de modelos de QSTR para avaliação de ecotoxicidade para abelhas.



Fonte: Autores.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

DESCRITORES MOLECULARES

O descritor molecular é o resultado final de um procedimento lógico e matemático que transforma a estrutura química de um composto em um número (Buckle et al. 2013; Todeschini e Consonni 2000; Todeschini e Consonni 2009). Atualmente, milhares de descritores moleculares estão disponíveis (Yap 2011; Landrum 2014; Todeschini e Consonni 2009; Todeschini e Consonni 2000) para a construção de modelos de QSTR. Estes podem ser classificados em unidimensionais (1D), baseados em propriedades físico-químicas e da fórmula molecular (*e.g.* refratividade molar, logP e massa molecular); bidimensionais (2D), que descrevem propriedades que podem ser representadas como ligações e átomos (*e.g.* número de átomos de nitrogênio e oxigênio, número de ligações e índices de conectividade); e tridimensionais (3D), que dependem da conformação das moléculas (*e.g.* área de superfície acessível ao solvente e volume molecular) (Xue e Bajorath 2000). Outra classificação que diz respeito à natureza dos descritores moleculares os classifica como: (i) impressões digitais moleculares (do inglês *fingerprints*), que calculam a presença ou frequência de determinados fragmentos na molécula (*e.g.* *fingerprints* Morgan e Avalon); (ii) quanto-mecânicos (*e.g.* energia dos orbitais moleculares); (iii) eletrostáticos (*e.g.* índices de polaridade e carga parciais); (iv) constitucionais (*e.g.* peso molecular, números de átomos e ligações); (v) topológicos (*e.g.* índices de Randić); e (iv) geométricos (*e.g.* volume molecular, área de superfície polar) (Kockar et al. 2010; Rogers e Hahn 2010; Todeschini e Consonni 2009). O trabalho de construção dos modelos moleculares estruturais utilizados em QSTR, quando obtido pela difração dos raios X por monocristais, pode ser obtido através do *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC). Nesse sentido, todas as informações estruturais necessárias (entre elas as distâncias interatômicas, os ângulos de ligação, os ângulos torcionais e a coerência química) estão disponíveis.

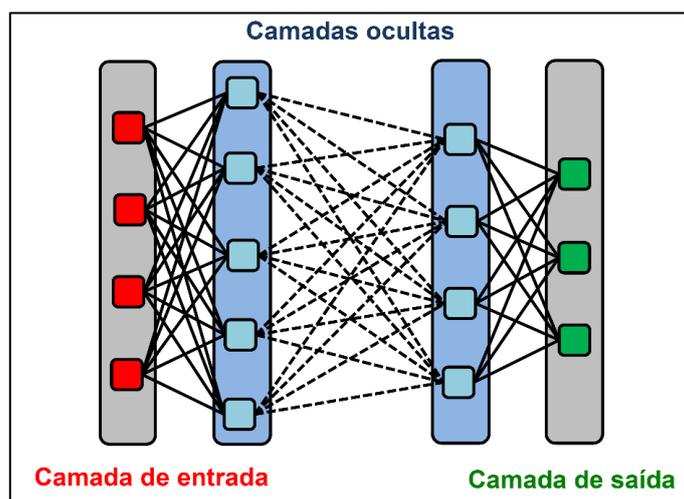
APRENDIZADO DE MÁQUINA

O aprendizado de máquina é um ramo da inteligência artificial que estuda o desenvolvimento de sistemas capazes de adquirir conhecimento e tomar decisões através da solução bem-sucedida de problemas anteriores. Diversos métodos de aprendizado de máquina estão disponíveis (*e.g.* Floresta Randômica (Breiman 2001) e Máquina de Suporte de Vetores (Vapnik 2000)), entretanto o método que vem ganhando grande atenção no campo da toxicologia computacional é a aprendizagem profunda (do inglês, *Deep Learning*) (Goh, Hodas, e Vishnu 2017; Ma et al. 2015). O método de aprendizagem profunda é um tipo de aprendizado de máquina em que os computadores formam grandes redes neurais artificiais com múltiplas camadas, semelhantes às encontradas no cérebro humano (Figura 2). Este método é particularmente adequado para a modelagem de QSTR porque suas camadas ocultas são capazes de computar recursos não lineares adaptativos que capturam cada vez mais padrões de dados

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

complexos (descritores moleculares) em cada camada adicional iterativa (Goh, Hodas, e Vishnu 2017; Ma et al. 2015). Até o presente momento, poucos estudos de QSTR foram desenvolvidos utilizando aprendizado profundo. Entretanto, a comparação deste método com outros algoritmos de aprendizado de máquina para uma variedade propriedades biológicas/toxicológicas sugerem que esse método frequentemente melhora a preditividade de modelos QSTR (Korotcov et al. 2017).

Figura 2. Representação do algoritmo de aprendizado profundo.



Fonte: Autores.

BOAS PRÁTICAS PARA CONSTRUÇÃO E VALIDAÇÃO DE MODELOS DE QSTR

Por se tratar de um campo de pesquisa relativamente novo, nos últimos 15 anos várias diretrizes e recomendações foram desenvolvidas para auxiliar a construção e validação de modelos de QSTR (Dearden, Cronin, e Kaiser 2009; Tropsha 2010; Cherkasov et al. 2014). A principal delas, publicada no ano de 2004 pela OECD sugere que a modelagem de QSTR siga cinco princípios: (i) ter propriedade biológica definida; (ii) utilizar algoritmos não ambíguos; (iii) ter domínio de aplicabilidade (DA) definido; (iv) apresentar robustez e preditividade apropriadas; e (v) realizar a interpretação mecanística dos modelos, ou seja, encontrar relações entre os descritores e a atividade biológica, visando a melhor compreensão do mecanismo de ação de uma estrutura química ou aprofundar o conhecimento biológico sobre a propriedade em estudo (OECD 2004).

Apesar das recomendações, os modelos de QSTR desenvolvidos para abelha até o momento (Singh et al. 2014; Como et al. 2017; Xiao Li et al. 2017; Vighi, Garlanda, e Calamari 1991; Devillers et al. 2002) apresentam diversos problemas. Todos os modelos publicados foram construídos utilizando conjuntos de dados muito pequenos, resultando em um espaço químico com aplicabilidade limitada.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Embora estes modelos pareçam bastante robustos, uma análise crítica demonstra que a maior parte deles não obedece às recomendações da OECD.

As seguintes características foram observadas: (i) não há evidências de que a maioria dos conjuntos de dados modelados tenha passado por um processo de padronização de estruturas químicas e análise de duplicatas; (ii) a interpretação mecanicista dos modelos e domínio de aplicabilidade não são fornecidos; e (iii) a preditividade dos modelos não é aceitável. Além disso, os modelos publicados não estão disponíveis em servidores ou aplicativos móveis para realizar previsões. Essas desvantagens comprometem a utilização prática dos modelos construídos até então, uma vez que eles não são acessíveis a usuários que tem interesse de investigar o perfil toxicológico de compostos aprovados (e.g., engenheiros agrônomos, biólogos, químicos, etc.) ou em desenvolvimento (e.g., pesquisadores) em abelhas. Consequentemente, o desenvolvimento de um servidor e aplicativo de acesso livre é completamente desejável pela comunidade científica.

DESENVOLVIMENTO DE PROGRAMAS DE COMPUTADOR E APLICATIVOS

A desenvolvimento de servidores e aplicativos móveis representa uma das etapas mais importantes para a implantação de modelos de QSTR. Esta etapa garante que pesquisadores e órgãos reguladores consigam ter acesso aos modelos construídos e através de uma interface gráfica intuitiva, possam prever a ecotoxicidade de moléculas em fase de desenvolvimento ou registro. Atualmente, servidores e aplicativos móveis podem ser desenvolvidos utilizando ferramentas de código aberto, tais como Flask, RDKit, e Python (Oliphant 2007; Millman e Aivazis 2011). Estas ferramentas já foram aplicadas de forma eficiente em modelos de QSTR com outras aplicações (Alves et al. 2014; Braga et al. 2017), entretanto elas permanecem inexploradas no campo da Ecotoxicologia.

O pacote Flask é uma *microframework* popular e extensível que permite a construção de servidores e aplicativos utilizando Python. Já o RDKit é uma interface de programação de aplicativos de quimioinformática que calcula descritores moleculares como impressões digitais moleculares Morgan (Morgan 1965; Rogers e Hahn 2010) (*i.e.* representação numérica da estrutura química) para o desenvolvimento de modelos de QSTR utilizando aprendizado de máquina. O programa RDKit também pode ser usado para gerar mapas de probabilidade, uma ferramenta para interpretação mecanística do modelos que permite a visualização dos fragmentos estruturais que contribuem positivamente (verde) e negativamente (roxo) para a propriedade toxicológica em estudo (Riniker e Landrum 2013). Por último, pacotes desenvolvidos em Python (Oliphant 2007; Millman e Aivazis 2011) como Scikit-learn, (Pedregosa et al. 2012) NumPy, (van der Walt, Colbert, e Varoquaux 2011)

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Pandas,(McKinney 2010) Matplotlib,(Hunter 2007) Keras e Tensorflow (Abadi et al. 2016) podem ser utilizados em todo o processo de construção e validação estatística dos modelos.

CONCLUSÕES

Apesar dos progressos obtidos no campo da Ecotoxicologia experimental para padronizar os ensaios experimentais de toxicidade em abelhas, percebe-se que esses esforços ainda não garantem totalmente que apenas os agrotóxicos com baixo risco ambiental para abelhas sejam aprovados para comercialização no Brasil e em outros países. Portanto, o desenvolvimento de métodos alternativos para abordar o potencial de toxicidade destes produtos químicos é de extrema importância. Métodos de aprendizado de máquina, como as abordagens modernas de QSTR, se tornaram mais poderosos devido à rápida expansão dos dados de toxicidade disponíveis em bancos de dados químicos como (1) *The ECOTOXicology knowledgebase* (U.S. Environmental Protection Agency 1993) e (2) *Chemical Database of the European Molecular Biology Laboratory* (Gaulton et al. 2012). Nesse sentido, apresentamos, com foco nas melhores práticas de desenvolvimento e validação, os aplicativos móveis e servidores (baseados em QSTR) como ferramentas custo-efetivas para prever a ecotoxicidade de agrotóxicos em abelhas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.

REFERÊNCIAS

Abadi M, Barham P, Chen J, Chen Z, Davis A, Dean J, Devin M, et al. 2016. TensorFlow: A System for Large-Scale Machine Learning TensorFlow: A system for large-scale machine learning. In *12th USENIX Symposium on Operating Systems Design and Implementation (OSDI '16)*, 265-284. doi:10.1038/n.3331.

Alaux C, Brunet JL, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M, Brillard J, Baldy A, Belzunces LP, Le Conte Y 2010. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*, 12(3):774-782. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x.

Alves VM, Braga RC, Silva MB, Muratov E, Fourches D, Tropsha A, Andrade CH 2014. Pred-hERG: A novel web-accessible computational tool for predicting cardiac toxicity of drug candidates. In *Abstracts of Papers, 248th ACS National Meeting & Exposition, San Francisco, CA, United States, August 10-14, 2014*, CINF-40. American Chemical Society.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Atkins EL, Kellum D 1986. Comparative Morphogenic and toxicity Studies on the Effect of Pesticides on Honeybee Brood. *Journal of Apicultural Research*, 25(4):242-255. doi:10.1080/00218839.1986.11100725.

Blacquièrre T, Smagghe G, van Gestel CAM, Mommaerts V 2012. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4):973-992. doi:10.1007/s10646-012-0863-x.

Braga RC, Alves VM, Muratov EN, Strickland J, Kleinstreuer N, Trospsha A, Andrade CH 2017. Pred-Skin: A Fast and Reliable Web Application to Assess Skin Sensitization Effect of Chemicals. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(5):1013-1017. doi:10.1021/acs.jcim.7b00194.

Breiman L 2001. Random forests. *Machine Learning*, 45(1):5-32. doi:10.1023/A:1010933404324.

Buckle DR, Erhardt PW, Ganellin CR, Kobayashi T, Perun TJ, Proudfoot J, Senn-Bilfinger J 2013. Glossary of Terms Used in Medicinal Chemistry Part II. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 48:387-418. doi:10.1016/B978-0-12-417150-3.00024-7.

Cajá DF, Silva RA, Santos AS, Souza FS, Silva SS, Silva VLS, Andrade ABA 2015. Frequência de visitas de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L em flores de chanana (*Turnera ulmifolia* L.). *ACSA - Agropecuária Científica no Semiárido*, 11(1):164-169.

Cameron SA, Lozier JD, Strange JP, Koch JB, Cordes N, Solter LF, Griswold TL 2011. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(2):662-667. doi:10.1073/pnas.1014743108.

Cardoso FH, Moraes MVP, Serra J, Sarney Filho J 2002. *Decreto nº 4.074*. Brasil.

Cherkasov A, Muratov EN, Fourches D, Varnek A, Baskin II, Cronin M, Dearden J, et al. 2014. QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(12):4977-5010. doi:10.1021/jm4004285.

Como F, Carnesecchi E, Volani S, Dorne JL, Richardson J, Bassan A, Pavan M, Benfenati E 2017. Predicting acute contact toxicity of pesticides in honeybees (*Apis mellifera*) through a k-nearest neighbor model. *Chemosphere*, 166(janeiro):438-444. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.09.092.

Dearden JC, Cronin MTD, Kaiser KLE 2009. How not to develop a quantitative structure-activity or structure-property relationship (QSAR/QSPR). *SAR and QSAR in Environmental Research*, 20(3-4):241-266. doi:10.1080/10629360902949567.

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM 2007. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52(1):81-106. doi:10.1146/annurev.ento.52.110405.091440.

Devillers J, Pham-Delègue MH, Decourtye A, Budzinski H, Cluzeau S, Maurin G 2002. Structure-toxicity modeling of pesticides to honey bees. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 13(7-8):641-648. doi:10.1080/1062936021000043391.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Eiri DM, Nieh JC 2016. A nicotinic acetylcholine receptor agonist affects honey bee sucrose responsiveness and decreases waggle dancing. *The Journal of Experimental Biology*, 219(13):2081-2081. doi:10.1242/jeb.143727.

Fairbrother A, Purdy J, Anderson T, Fell R 2014. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(4):719-731. doi:10.1002/etc.2527.

Gaulton A, Bellis LJ, Bento AP, Chambers J, Davies M, Hersey A, Light Y, et al. 2012. ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic Acids Research*, 40(Database issue):D1100-D1107. doi:10.1093/nar/gkr777.

Goh GB, Hodas NO, Vishnu A 2017. Deep learning for computational chemistry. *Journal of Computational Chemistry*, 38(16):1291-1307. doi:10.1002/jcc.24764.

Golbraikh A, Tropsha A 2002. Beware of q²! *Journal of molecular graphics & modelling*, 20(4):269-276.

Gregorc A, Evans JD, Scharf M, Ellis JD 2012. Gene expression in honey bee (*Apis mellifera*) larvae exposed to pesticides and Varroa mites (*Varroa destructor*). *Journal of Insect Physiology*, 58(8):1042-1049. doi:10.1016/j.jinsphys.2012.03.015.

Hunter JD 2007. Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering*, 9(3):90-95. doi:10.1109/MCSE.2007.55.

Johansen CA, Mayer DF 2013. *Pollinator Protection: A Bee & Pesticide Handbook*. JC Lawrence (org.). Wicwas Press, Cheshire, CT.

Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608):303-313. doi:10.1098/rspb.2006.3721.

Kockar H, Alper M, Sahin T, Hacıismailoglu MS 2010. Co-Fe films: effect of Fe content on their properties. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 10(11): 7639-7642. doi:10.1007/978-1-4020-9783-6.

Korotcov A, Tkachenko V, Russo DP, Ekins S 2017. Comparison of Deep Learning With Multiple Machine Learning Methods and Metrics Using Diverse Drug Discovery Data Sets. *Molecular Pharmaceutics*, 14(12):4462-4475. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.7b00578.

Landrum 2014. RDKit: Open-Source Cheminformatics Software.

Li X, Zhang Y, Chen H, Li H, Zhao Y 2017. Insights into the Molecular Basis of the Acute Contact Toxicity of Diverse Organic Chemicals in the Honey Bee. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(12):2948-2957. doi:10.1021/acs.jcim.7b00476.

Li X, Bao C, Yang D, Zheng M, Li X, Tao S 2010. Toxicities of fipronil enantiomers to the honeybee *Apis mellifera* L. and enantiomeric compositions of fipronil in honey plant flowers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(1):127-132. doi:10.1002/etc.17.

Ma J, Sheridan RP, Liaw A, Dahl GE, Svetnik V 2015. Deep Neural Nets as a Method for Quantitative Structure-Activity Relationships. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(2):263-274. doi:10.1021/ci500747n.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Martins ES 1996. *Portaria Normativa Ibama nº 84*. Ibama, Brasil.

McKinney W 2010. Data Structures for Statistical Computing in Python. In *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*, 1697900:51-56.

Millman KJ, Aivazis M 2011. Python for Scientists and Engineers. *Computing in Science & Engineering*, 13(2):9-12. doi:10.1109/MCSE.2011.36.

Ministério do Meio Ambiente. 2017. Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas.

Morgan HL 1965. The Generation of a Unique Machine Description for Chemical Structures-A Technique Developed at Chemical Abstracts Service. *Journal of Chemical Documentation*, 5(2):107-113. doi:10.1021/c160017a018.

OECD 1998. Test No. 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test. doi:10.1787/9789264070189-en.

OECD 2004. OECD principles for the validation, for regulatory purposes, of (Quantitative) Structure-Activity Relationship models.

Oliphant TE 2007. Python for Scientific Computing. *Computing in Science & Engineering*, 9(3):10-20. doi:10.1109/MCSE.2007.58.

Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O, Blondel M, et al. 2012. Scikit-learn: Machine Learning in Python. *Journal of Machine Learning Research*, 12:2825-2830. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.

Pettis JS, Lichtenberg EM, Andree M, Stützinger J, Rose R, VanEngelsdorp D 2013. Crop Pollination Exposes Honey Bees to Pesticides Which Alters Their Susceptibility to the Gut Pathogen *Nosema ceranae*. Nascimento FS (org.). *PLoS ONE*, 8(7):e70182. doi:10.1371/journal.pone.0070182.

Pettis JS, VanEngelsdorp D, Johnson J, Dively G 2012. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*, 99(2):153-158. doi:10.1007/s00114-011-0881-1.

Pires CSS, Pereira FM, Lopes MTR, Nocelli RCF, Malaspina O, Pettis JS, Teixeira EW 2016. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(5):422-442. doi:10.1590/S0100-204X2016000500003.

Riniker S, Landrum GA 2013. Similarity maps - A visualization strategy for molecular fingerprints and machine-learning methods. *Journal of Cheminformatics*, 5(9):1-7. doi:10.1186/1758-2946-5-43.

Rogers D, Hahn M 2010. Extended-connectivity fingerprints. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 50(5):742-754. doi:10.1021/ci100050t.

Sarney J, Machado IR, Alves Filho J, Denys RB 1989. *Lei nº 7.802*. Brasil.

Singh KP, Gupta S, Basant N, Mohan D 2014. QSTR Modeling for Qualitative and Quantitative Toxicity Predictions of Diverse Chemical Pesticides in Honey Bee for Regulatory Purposes. *Chemical Research in Toxicology*, 27(9):1504-1515. doi:10.1021/tx500100m.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Thompson HM, Fryday SL, Harkin S, Milner S 2014. Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. *Apidologie*, 45(5):545-553. doi:10.1007/s13592-014-0273-6.

Todeschini R, Consonni V 2000. Handbook of Molecular Descriptors. R Todeschini, V Consonni (orgs.). *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, Germany. doi:10.1002/9783527613106.

Todeschini R, Consonni V 2009. *Molecular Descriptors for Chemoinformatics*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany.

Tropsha A 2010. Best Practices for QSAR Model Development, Validation, and Exploitation. *Molecular Informatics*, 29(6-7):476-488. doi:10.1002/minf.201000061.

Tylianakis JM 2013. The Global Plight of Pollinators. *Science*, 339(6127):1532-1533. doi:10.1126/science.1235464.

U.S. Environmental Protection Agency 1993. Pesticide Ecotoxicity Database (Formerly: Environmental Effects Database (EEDB)).

van der Walt S, Colbert SC, Varoquaux G 2011. The NumPy Array: A Structure for Efficient Numerical Computation. *Computing in Science & Engineering*, 13(2):22-30. doi:10.1109/MCSE.2011.37.

van der Zee R, Pisa L, Andonov S, Brodschneider R, Charrière JD, Chlebo R, Coffey MF, et al. 2012. Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *Journal of Apicultural Research*, 51(1):100-114. doi:10.3896/IBRA.1.51.1.12.

vanEngelsdorp D, Meixner MD 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(janeiro):S80-S95. doi:10.1016/j.jip.2009.06.011.

vanEngelsdorp D, Speybroeck N, Evans JD, Nguyen BK, Mullin C, Frazier M, Frazier J, et al. 2010. Weighing Risk Factors Associated With Bee Colony Collapse Disorder by Classification and Regression Tree Analysis. *Journal of Economic Entomology*, 103(5):1517-1523. doi:10.1603/EC09429.

Vapnik VV 2000. *The Nature of Statistical Learning Theory*. 2.ed. New York: Springer.

Vieira GHC, Marchini LC, Souza BA, Moreti ACCC 2008. Fontes florais usadas por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em área de cerrado no município de Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Ciencia e Agrotecnologia*, 32(5):1454-1460. doi:10.1590/S1413-70542008000500015.

Vighi M, Garlanda MM, Calamari D 1991. QSARs for toxicity of organophosphorous pesticides to *Daphnia* and honeybees. *Science of The Total Environment*, 109-110(dezembro):605-622. doi:10.1016/0048-9697(91)90213-X.

Whitehorn PR, O'Connor S, Wackers FL, Goulson D 2012. Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. *Science*, 336(6079):351-352. doi:10.1126/science.1215025.

Josiel A. Lemes; José E. F. Sousa; Kamila S. Pereira; Bruno F. C. Lacerda; Kamyla C. B. Araújo; Josana de C. Peixoto; Lucimar P. Rosseto; Hamilton B. Napolitano; Bruno Jr. Neves

Wu JY, Anelli CM, Sheppard WS 2011. Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker Honey Bee (*Apis mellifera*) Development and Longevity. F Marion-Poll (org.). *PLoS ONE*, 6(2):e14720. doi:10.1371/journal.pone.0014720.

Wu JY, Smart MD, Anelli CM, Sheppard WS 2012. Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(3):326-329. doi:10.1016/j.jip.2012.01.005.

Xue L, Bajorath J 2000. Molecular descriptors in chemoinformatics, computational combinatorial chemistry, and virtual screening. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 3(5):363-372.

Yap CW 2011. PaDEL-descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *Journal of Computational Chemistry*, 32(7):1466-1474. doi:10.1002/jcc.21707.

Development of Computational Models for Predictive Evaluation of Ecotoxicity in Bees: Current Challenges

ABSTRACT

The hazardous chemicals, especially pesticides and industrial chemicals, have been responsible for a dramatic drop in number of bees. Therefore, ecological risk assessment of novel chemicals is vital and necessary. Since experimental assays on bees are costly, time-consuming, and poses an ethical problem; there is a very urgent need to develop alternative methods for assess ecotoxicity on bees. In this review, we summarize current technological development efforts to reliably identify and filter out compounds potentially toxic for bees. Furthermore, we highlighted the recent strengths and pitfalls in the integration, preparation and standardization of data needed to build computational models, and suggest possible roadmaps, which may contribute for optimizing research outputs and led to more successful and predictive computational models.

Keywords: Pollinators; Computational Toxicology; Artificial Intelligence; Predictive Modeling.

Submissão: 05/07/2018
Aceite: 02/04/2019