UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

JEFFERSON BRUNO CARVALHO SOARES

TOXICIDADE DE INSETICIDAS NEONICOTINOIDES SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* L. (AFRICANIZADAS)

MOSSORÓ, RN

2016

JEFFERSON BRUNO CARVALHO SOARES

TOXICIDADE DE INSETICIDAS NEONICOTINOIDES SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* L. (AFRICANIZADAS)

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, como exigência final para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Dejair Message, UFERSA
Co-orientador: Prof. Dr. Mauricio Sekiguchi de Godoy, UFERSA

MOSSORÓ-RN
2016

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido.O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
BIBLIOTECA CENTRAL ORLANDO TEIXEIRA
Setor de Informação e Referência

S676t Soares, Jefferson Bruno Carvalho.

Toxicidade de inseticidas neonicotinoides sobre abelhas Apis mellifera L. (africanizadas) / Jefferson Bruno Carvalho Soares. - Mossoró, 2016.
51f: il.

Orientador: Dr. Dejair Message
Co-Orientador: Dr. Mauricio sekeguchi de Godoy

Dissertação (MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

1. $DL_{50.}$ 2. $CL_{50.}$ 3. TL_{50}. 4. Coeficiente de Risco (HQ). 5. Pesticidas I. Título

RN/UFERSA//BOT/008 CDD 632.9

TOXICIDADE DE INSETICIDAS NEONICOTINOIDES SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* L. (AFRICANIZADAS)

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, como exigência final para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

APROVADO EM 16 / 02 / 2016

BANCA EXAMINADORA

(Prof. Dr. Dejair Message – UFERSA)
Presidente

(Prof. Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy – UFERSA)
Primeiro Membro

(Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves)
Segundo Membro

A **Deus**, pelo dom da vida;

Aos meus pais, **Jose Dorian Soares Guerra** e **Francisca Lucineide de Carvalho Freire Soares**, por terem contribuído diretamente pela minha constituição genética;

Aos meus avos, **Jose soares de Macedo** e **Maria do Carmo Guerra Soares** pela amizade e união.

À **Cinthia Távora** pelo amor, carinho e apoio durante toda essa caminhada;

DEDICO

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JEFFERSON BRUNO CARVALHO SOARES – nasceu no dia 07 de janeiro 1988 na cidade de Apodi no estado do Rio Grande do Norte. É graduado em Engenharia Agronômica através da Universidade Federal Rural do Semi-Árido/UFERSA. Na graduação, atuou em projetos na área de zootecnia e agronomia. Na sua monografia estudou a diversidade da entomofauna associada à cultura da videira no município de Mossoró/RN. Em 2014 ingressou no mestrado no programa de Pós–Graduação em Ciência Animal (UFERSA), onde no decorrer do curso concluiu os créditos curriculares exigidos pelo programa.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Dejair Message, pela confiança, orientação, paciência e pelo exemplo de pesquisador e profissional;

Ao Maurício Sekiguchi de Godoy, que foi mais que um co-orientador, foi um amigo;

Quero agradecer aos amigos que fizeram parte da minha trajetória na UFERSA, obrigado pelas conversas paralelas!;

Ao coordenador do PPG Ciência Animal /UFERSA, Dr. Jean Berg Alves da Silva, pela sua eficiência e por estar sempre disposto a resolver os problemas referentes ao PPG Ciência Animal;

Ao Professores Kleberson Porpino e Márcia de Fátima Ribeiro, pelo conhecimento compartilhado;

Ao Prof. Dr. Alexandre Paula Braga, por ter permitido a utilização do laboratório de Nutrição Animal;

A Alricelia, Bárbara e Maria Ítala, pela ajuda na montagem do experimento;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro;

Ao Centro Tecnológico de Apicultura e Meliponicultura do Rio Grande do Norte - CETAPIS, pelo apoio logístico.

“Deixe o futuro dizer a verdade, e avaliar cada um de acordo com seus trabalhos e suas conquistas’’

Nikola Tesla

TOXICIDADE DE INSETICIDAS NEONICOTINÓIDES SOBRE ABELHAS *Apis mellifera* L. (AFRICANIZADAS)

SOARES, J.B.C. **Toxicidade de Inseticidas Neonicotinoides Sobre Abelhas *Apis mellifera* (Africanizadas).** 2016, 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Sanidade e Produção Animal) – Universidade Federal Rural Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

RESUMO: As abelhas melíferas apresentam um importante papel tanto na parte econômica como ambiental. Entretanto, nos últimos anos tem sido observado um declínio em nível mundial das colônias de abelhas, causando preocupação entre pesquisadores e apicultores. A exposição aos agrotóxicos pode acarretar sérios problemas para as abelhas e aos serviços de polinização. Nesse sentido, é de extrema importância determinar a toxicidade de inseticidas que são utilizados para o controle de pragas. O objetivo desse trabalho foi determinar a toxicidade dos produtos (Actara® 250 WG – Tiametoxam); (Evidence® 700WG – Imidacloprido[1]); (Nuprid® 700WG Imidacloprido[2]); (Orfeu® 200WG – Acetamiprido) e (Focus® 500WG – Clotianidina) sobre abelhas *Apis mellifera*, tendo sido avaliados alguns parâmetros toxicológicos, como Tempo Letal (TL_{50}) para a aplicação tópica e oral, Dose letal (DL_{50}) para aplicação tópica e Concentração letal (CL_{50}) por ingestão, além de determinar o coeficiente de periculosidade (HQ). Para isso abelhas foram expostas aos inseticidas em diferentes concentrações e os dados de mortalidade submetidos às análises de sobrevivência e regressão Logit. Independente da forma de exposição todos os inseticidas testados ocasionaram a morte de 100% das abelhas, com a TL_{50}, variando entre 0.68 a 3.85h para exposição tópica e 0.64 a 4.2h para exposição oral. Para a DL_{50} e CL_{50}, o tiametoxam, Imidacloprido[1], imidacloprido[2], acetamiprido, e o clotianidina apresentaram os respectivos valores para as DL_{50}, 7.5, 38, 57, 131, 10.5 ng/abelhas e CL_{50}, de 5.56, 24.4, 278, 50.8, 6,8 $ng.\mu l^{-1}$ respectivamente. Quanto ao Coeficiente de Risco (HQ) todos os inseticidas independente da cultura ou praga apresentaram um HQ maior que 50, variando de 157,7 (acetamiprido utilizado no algodão para o controle do *Aphis gossypii*) a 66.666,7 (tiametoxam utilizado no café para o controle da *Leucoptera coffeella* e *Dysmicoccus texensis*), mostrando o altíssimo nível de periculosidade destes inseticidas para as abelhas.

Palavras chaves: DL_{50}, CL_{50}, TL_{50}, Coeficiente de Risco (HQ), pesticidas.

TOXICITY OF NEONICOTINOID INSECTICIDES ON BEES *Apis mellifera* L. (AFRICANIZED BEES)

SOARES, J.B.C. **Toxicity of neonicotinoid insecticides on bees *Apis mellifera* L. (Africanized bees).** 2016, 51f**.** Thesis (MSc in Animal Science: Animal Health and Production) - Universidade Federal Rural Semi-Árido (UFERSA), Mossoró – RN, 2016.

SUMMARY: Honey bees play an important role in both economic and environmental part. However, in recent years there has been observed a decline in the worldwide bee colonies, causing concern among researchers and beekeepers. Exposure to pesticides can cause serious problems for bees and pollination services. Therefore, it is extremely important to determine the toxicity of insecticides, which are used for pest control. The aim of this study was to determine the toxicity of the products (Actara® 250 WG - Thiamethoxam); (Evidence® 700WG - Imidacloprido1); (Orfeu® 200WG - Acetamiprid); (Focus® 500WG - Clothianidin) and (Nuprid® 700WG Imidacloprido2) on Apis mellifera, for it was evaluated some toxicological endpoints, such as lethal time (LT50) topical and oral lethal dose (LD50) topical and lethal concentration (LC50) by intake, and to determine the hazard ratio (HQ). For that bees were exposed to insecticides in different concentrations and mortality data submitted to analysis of survival and logit regression. Independent of all tested insecticides exposure caused the death of 100% of the bees with the TL50, ranging from 0.68 to 3.85h for topical exposure, and exposure for 4.2h at 0.64 with respect to CL_{50} and DL_{50}, the Thiamethoxam , Imidacloprido1, Acetamiprid, Clothianidin, and Imidacloprido2, presented their values for LD50, 7.5, 38, 57, 131, 10.5 ng / bees and LC50, 5.56, 24.4, 278, 50.8, 6,8 ng.µl-1 . As for the risk coefficient (HQ) all regardless of culture or pest insecticides had a higher HQ to 50, ranging from 157.7 (Acetamiprid used in cotton for control of Aphis gossypii) to 66666.7 (thiamethoxam used in breakfast control Leucoptera coffeella and Dysmicoccus texensis), showing the highest level of danger of these pesticides to bees.

Palavras- chave: DL_{50}, $CL_{50,}$ TL_{50}, Coeficiente de Risco (HQ), Pesticids.

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Ingredientes ativos e concentração aplicada nos testes de toxicidade sobre operarias de *Apis mellifera* em condições de laboratório. **24**

Tabela 2. Classificação toxicológica de pesticidas para *Apis mellifera* determinada em função da DL_{50}, mais a CL_{50}. **29**

Tabela 3. Coeficiente de risco (HQ) de neonicotinoides sobre abelhas *Apis mellifera* (africanizadas), quando utilizados em diferentes culturas para o controle de insetos praga..... **30**

LISTA DE FIGURAS

Pagina

Figura 1. Tempo letal (TL_{50} em horas) de abelhas *Apis mellifera* após exposição tópica aos inseticidas comerciais formulados à base de neonicotinoides..... **27**

Figura 2. Tempo letal (TL_{50} em horas) de abelhas *Apis mellifera* após exposição oral aos inseticidas comerciais formulados à base de neonicotinoides..... **28**

SUMÁRIO

Página

1 INTRODUÇÃO..... 15

2 OBJETIVOS..... 17

2.1 GERAL..... 17

2.2 ESPECÍFICOS..... 17

3 REVISÃO DE LITERATURA..... 18

3.1 IMPORTÂNCIA DA APICULTURA..... 18

3.2 IMPACTOS DOS PESTICIDAS SOBRE AS ABELHAS..... 20

3.2.1 Inseticidas no Brasil..... 20

3.2.2 Inseticidas Neonicotinoides e Seus Efeitos Sobre Abelhas *Apis mellifera*..... 20

3.2.3 Seletividade de agrotóxicos..... 21

4 MATERIAL E MÉTODOS..... 23

4.1 ABELHAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO..... 23

4.2 AGROTÓXICOS TESTADOS..... 23

4.3 PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS..... 24

4.3.1 Determinação do Tempo Letal Médio (TL_{50}) Para Exposição Tópico e Oral 24

4.3.2 Determinação da Dose Letal média Tópica..... 25

4.3.3 Determinação da Concentração Letal média Oral..... 26

4.3.4 Determinação do Coeficiente de Risco e Classificação Toxicológica.... 26

5 RESULTADOS..... 27

5.1 TEMPO LETAL (TL_{50}), TÓPICO E ORAL..... 27

5.2 DETERMINAÇÃO DA DOSE LETAL MÉDIA (TL_{50}) E CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA

(DL_{50})..... 28
5.3 COEFICIENTE DE RISCO E CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA..... 29

6 DISCUSSÃO..... 32
6.1 SOBREVIVÊNCIA DE *A. mellifera* APÓS A EXPOSIÇÃO TÓPICA E ORAL..... 32
6.2 TOXICIDADE DE NEONICOTINÓIDES ÀS ABELHAS *Apis mellifera*..... 35
6.3 COEFICIENTE DE RISCO DE NEONICOTINOIDES SOBRE AS ABELHAS..... 37

7 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS 39

REFERÊNCIAS 41

1 INTRODUÇÃO

A apicultura brasileira apresenta-se como uma boa atividade econômica, especialmente para os pequenos produtores, em virtude dos baixos investimentos iniciais e por ser uma atividade sustentável (BOTH; KATO; OLIVEIRA, 2009; LENGLER e SILVA, 2011; SORDI et al., 2014;).

Essa atividade é responsável pela produção de mel, cera, geléia real e própolis. Entretanto, a principal importância econômica e ecológica da apicultura está na atuação desses insetos como agentes de polinização, tornando-se, um fator fundamental em vários nichos ecológicos (OLLERTON, WINFREE e TARRANT, 2011) e na produção de muitas culturas agrícolas, aumentado e melhorando a qualidade de frutos e grãos (D'AVILA e MARCHINI, 2005; KLEIN et al., 2007).

Porém, o declínio populacional de abelhas vem aumentado drasticamente em varias regiões, causando preocupação aos apicultores e pesquisadores em todo o mundo (POTTS et al., 2010; CAMERON et al., 2011; LAUTENBACH et al., 2012).

Entre as principais causas relacionadas à diminuição da diversidade desses insetos, está a perda de habitat, que consequentemente ocasiona a diminuição de recursos alimentares e perda de local para nidificacão (HAGEN et al., 2012) e o uso indiscriminado de agrotóxicos, que tem sido um dos principais responsáveis pela situação de estresse severo (DESNEUX; DECOURTYE e DELPUECH, 2007).

Os agrotóxicos, além de causarem a morte de abelhas, segundo Bortolotti et al. (2003) e Freitas e Pinheiro (2010), podem alterar o comportamento das abelhas tanto dentro quanto fora da colmeia levando ao colapso do enxame.

Considerando esses fatos, o uso de agrotóxicos esta cada vez mais associado ao declínio dos polinizadores, principalmente no entorno de áreas agrícolas, sendo inclusive associado à Síndrome do Colapso da Colônia (FONSECA, et al., 2012).

Essa síndrome é ocasionada por um conjunto de fatores, que tem como característica uma redução drástica de operarias na colônia, mesmo na presença da rainha, cria e alimento e sem haver vestígios de morte dessas abelhas (UNDERWOOD e VANENGELSDORP, 2007). Entre os vários pesticidas usados na agricultura, os neonicotinoides, estão entre, os mais prejudiciais às abelhas, pois, esse grupo de inseticidas além de apresentar uma baixa $DL_{50,}$ a exposição crônica a esses pesticidas,

afetam negativamente a biologia das abelhas (GILL et al., 2012; HENRY et al., 2012; ALAUX et al., 2010; PETTIS et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013; ROSSI et al., 2013).

No Brasil, os neonicotinoides vêm sendo amplamente utilizados para o controle de pragas em várias culturas de interesse econômico, como abacaxi, abobrinha, alface, arroz, batata, berinjela, café, cana-de-açúcar, citros, feijão-vagem, fumo, maçã, mamão, melancia, melão, morango, pepino, pêssego, pimentão, repolho, tomate, uva, algodão, amendoim, feijão, milho, soja e trigo, crisântemo, ervilha, eucalipto, feijão, repolho, tomate, trigo e soja. (AGROFIT, 2016).

Segundo relatório do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2016) foi consumido no Brasil em 2013, 8.285,82 t de princípio ativo de neonicotinóide.

Uma possível medida para minimizar os problemas causados pelos pesticidas seria a classificação toxicológica dos pesticidas. Tal estratégia permite avaliar o risco do uso de cada produto, possibilitando assim, a escolha de produtos que ofereçam menores riscos às abelhas, além de estabelecer, áreas potencialmente mais propícias à ocorrência de distúrbios provocados por inseticidas, e com isso intensificar as medidas preventivas.

A classificação toxicológica, já é uma realidade para a proteção de vários insetos benéficos como predadores (CASTILHOS et al., 2014; FUZITA et al., 2014) e parasitóides (DIAMANTINO et al., 2014; BACCI et al., 2015), sendo uma das principais ferramentas para a implantação de um programa de manejo integrado de pragas (MIP), mas para as abelhas ainda são escassos.

Dessa forma, são necessários estudos sobre a toxicidade de neonicotinóides formulados e a comparação direta da periculosidade desses produtos em culturas de importância econômica, possibilitando aos produtores um uso de produtos fitossanitários no controle de pragas com menor risco à vida das abelhas.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar os efeitos toxicológicos de inseticidas comerciais formulados com diferentes neonicotinoides empregados em culturas agrícolas, sobre operárias de abelhas *Apis mellifera* (africanizadas).

2.2 ESPECÍFICOS

Para os inseticidas: (**Actara® 250 WG** – tiametoxam), (**Focus® 500 WG** – Clotianidina), **(Orfeu® 200 WG** – acetamipride), (**Evidence® 700 WG –** imidaclopride) e (**Nuprid® 700 WG–** imidaclopride) utilizados na cultura do melão:

A) Avaliar a seletividade destes inseticidas sobre operárias de abelhas africanizadas;

B) Determinar DL_{50} e CL_{50} sobre operárias de abelhas africanizadas;

C) Determinar o risco toxicológico dos inseticidas para abelhas africanizadas quando utilizados no controle de pragas em diferentes culturas agrícolas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 IMPORTÂNCIA DA APICULTURA

A apicultura brasileira teve inicio na década de 1830, quando foram importadas da Europa as primeiras colmeias de abelhas *A. mellifera*. Porém com o processo de africanização das abelhas melíferas, ocorrido a parte da segunda metade do século XX no Brasil, a apicultura nacional sofreu uma queda acentuada, devido os problemas ocasionados pela alta defensividade dessas abelhas (NASCIMENTO; GURGEL; MARACAJÁ, 2005).

No entanto, logo após o desenvolvimento de técnicas apícolas adaptadas ao manejo das abelhas Africanizadas, a apicultura destacou-se como uma das principais atividades zootécnicas desenvolvidas no Brasil, pois essas abelhas, além de apresentarem uma alta produtividade de mel, são resistentes a vários patógenos.

Hoje, a apicultura é citada por (SANTOS e RIBEIRO, 2009; SOUZA NETO, 2009), como uma atividade altamente importante, devido seu impacto positivo na economia, além das suas vantagens ecológicas, pois não precisa desmatar para criar abelhas. Na região Nordeste, em especial a semiárida, a apicultura desempenha um forte papel social, pois fortalece a agricultura familiar, beneficiando especialmente pequenos e médios agricultores (FREITAS, KHAN e SILVA , 2004; KHAN, MATOS e LIMA, 2009).

No Rio Grande do Norte, essa atividade até meados do ano 2000, era desenvolvida na sua maioria, por pessoas de baixa renda e de forma extrativista, sendo os enxames muitas vezes destruídos durante o processo de extração do mel. Entretanto, nos últimos anos, a apicultura vem se desenvolvendo significativamente nesse estado, fato esse comprovado pela alta produção alcançado pelos apicultores potiguar.

Entre os vários produtos frequentemente exploradas da apicultura, o mel é o principal ingrediente derivado da colméia comercializado no Brasil, (LIRIO, 2010). Mesmo a produção nacional tendo diminuído nos últimos anos (IBGE, 2015), provavelmente pela estiagem prolongada na região Nordeste, o Brasil ainda conseguiu exportar em 2015, aproximadamente 18.6 t de mel, colocando o país entre os principais

exportadores de mel, tendo como principais importadores, os Estados Unidos e Alemanha (ABEMEL, 2015).

A cera é outro produto comercializado, principalmente, na região potiguar, onde este produto é vendido na forma de placas de cera alveolada utilizadas na substituição de quadros com cera defeituosa ou velha visando melhorar as condições de crescimento da colônia e produção, mas de acordo com Barbosa et al. (2007) o mercado não se restringe apenas a essa finalidade podendo a cera ser utilizado na produção de cosméticos, medicamentos e velas artesanais.

O pólen apícola por sua vez, é um aglomerado de pólen de flores, coletados pelas abelhas, que vem conquistando cada vez mais o mercado de produtos naturais, por ser um alimento nutracêutico rico em nutrientes como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas, minerais (MASSON, 2008; VASCONCELOS, 2009).

Outros produtos apícolas, como a apitoxina, geléia real e a própolis, são compostas por varias substâncias químicas complexas, úteis na indústria farmacêutica sendo cada vez mais procurados e mais valorizados, nesse mercado específico.

Já os serviços de polinização, que consiste na transferência de pólen produzido nas anteras para o estigma da mesma flor ou de outra flor da mesma espécie (TEIXEIRA; MARINHO; PAULINO, 2014) é a principal contribuição econômica das abelhas melíferas, já que a agricultura em varias regiões do mundo depende dessas abelhas para manter uma boa produtividade, como relatado por (GARIBALDI et al., 2016). Orth (2000) ressalta que os serviços de polinização, são dezenas de vezes mais valiosos que qualquer outro produto produzido pelas abelhas melíferas.

O sucesso das abelhas *A. mellifera*, como fator importante de produção se dá pelas suas características (alto numero de indivíduos por colmeia, comportamento generalista e técnicas de manejo bem estabelecidas), sendo as únicas abelhas disponíveis para a polinização agrícola em escala global.

Apesar de a polinização ser pouco valorizada pelos agricultores brasileiros, estima-se monetariamente que os serviços de polinização movimentam bilhões de dólares americanos todos os anos (MORSE e CALDERONE, 2000). Porém a polinização parece ser economicamente muito mais importante do que anteriormente se pensava, pois, além dessa atividade gerar uma renda direta, Klatt et al. (2014) relatou que se realizada adequadamente, ela aumenta a quantidade e melhora a qualidade dos frutos e, consequentemente, o valor da mercadoria; além de aumentar a vida de prateleira reduzindo perdas de frutas em pelo menos 11%, gerando assim uma economia

de 320 milhões de dólares americanos somente na cultura do morango produzido nos Estados Unidos da América (EUA).

3.2 IMPACTOS DOS PESTICIDAS SOBRE AS ABELHAS

3.2.1 Inseticidas no Brasil

O uso de agroquímicos no Brasil se deu no início do século XX, estando entre os produtos mais consumidos naquela época o mercúrio, arsênico e enxofre (MORAGAS e SCHNEIDER, 2003). Devido à forma eficiente de se controlar pragas e, ao aumento das fronteiras agrícolas houve um aumento significativo no do uso de produtos químicos na agricultura brasileira. Segundo dados da (ABRASCO, 2015) em 2011 no Brasil foram plantados 71 milhões de hectares e consumido cerca de 826.683 t de agrotóxicos com um consumo aproximadamente de 3,2 Kg/ha de ingrediente ativo, sendo 12% inseticidas.

A utilização irregular desses produtos pode provocar vários danos em um agroecossistema, como a resistência de pragas, contaminação do solo, água e produtos agrícolas, além da diminuição de insetos benéficos. Dentre esses insetos as abelhas apresentam uma alta sensibilidade a vários inseticidas (DECOURTYE et al., 2005; BAPTISTA et al., 2009; CARVALHO et al., 2009).

3.2.2 Inseticidas Neonicotinoides e Seus Efeitos Sobre Abelhas *Apis mellifera*

O uso constante de agrotóxicos vem causando impactos negativos em vários sistemas agrícolas, principalmente aos polinizadores, estando os neonicotinoides entre os grupos de inseticidas mais prejudiciais às abelhas. Esse grupo tem como característica, a rápida absorção, atuação de forma sistêmica, um alto valor residual, além de ser altamente tóxico para varias espécies de insetos (TOMIZAWA e CASIDA, 2005).

Devido a essas características o grupo dos neonicotinoides vem sendo amplamente utilizados no Brasil para o controle de pragas em culturas de interesse

econômico como abacaxi, abobrinha, amendoim, alface, arroz, batata, berinjela, café, cana-de-açúcar, citros, feijão-vagem, feijão, fumo, maçã, mamão, melancia, melão, morango, pepino, pêssego, pimentão, repolho, tomate, trigo, uva, algodão, milho, crisântemo, ervilha, eucalipto, e soja. (AGROFIT; 2016).

Entretanto o uso desses inseticidas além de causarem a intoxicação aguda em abelhas a partir de concentrações muito baixas pode provocar várias mudanças na biologia das abelhas.

Segundo Cruz et al. (2010); Oliveira et al. (2013) e Rossi et al. (2013) os neonicotinoides podem provocar alterações morfológicas no túbulos de Malpighi e no cérebro das abelhas podendo essa ultima alteração provocar efeito direto no comportamentos desses insetos.

Ao realizar exposições combinadas de dois inseticidas (neonicotinoides e piretróides) em concentrações que poderiam aproximar da exposição em nível de campo, Gill et al. (2012) observaram que houve redução na capacidade de forrageamento, aumento na mortalidade e redução da área de cria.

Henry et al. (2012) ao avaliarem o efeito subletal de tiametoxam, concluíram que esse inseticida afetam a capacidade de retorno das abelhas campeiras para a colméia.

Além de danos diretos provocados pelos produtos químicos, alguns estudos científicos vêm mostrando a interação desses produtos com entomopatógenos. Como no caso dos trabalhos realizados por Alaux et al. (2010); Pettis et al. (2012), constataram que abelhas contaminadas com *Nosema* sp., quando expostas a inseticida imidaclopride aumentaram a suscetibilidade, sugerindo um efeito sinérgico entre patógeno e inseticida.

3.2.3 Seletividade de Agrotóxicos

Por muito tempo acreditava-se que o uso de agrotóxicos trazia apenas benefícios. Apenas a partir da década de 1960 foi que surgiram os primeiros trabalhos relatando a real periculosidade desses produtos, ganhando repercussão internacional (CARSON, 1962; VAN DEN BOSCH, 1978). Entretanto, os efeitos dos agrotóxicos sobre os polinizadores só ganharam atenção nos últimos anos devido a crise que o setor apícola vem passando decorrente da perda de colônias na América do Norte e Europa (NATIONAL AGRICULTURAL STATISTICS SERVICE, 2008; POTTS et al., 2010).

No Brasil, cada vez mais apicultores vem relatando perdas de colméias. De acordo com Malaspina et al. (2010) entre 2008 e 2010, mais de 5 mil colmeias de *A. mellifera*, foram perdidas no estado de São Paulo, possivelmente por causa de agrotóxicos. Nesse mesmo período, Message et al. (2011) relataram o colapso de colmeias similar a CCD, levantando a hipótese na ocasião, que esse abandono anormal foi possivelmente pelo efeito sinérgico entre inseticidas e a alta incidência de patógenos encontrado na área.

No entanto, as perdas por agrotóxicos no Brasil, são mais preocupantes do que se pensava, pois segundo dados Bee Alert (2016) todas as regiões vem sendo afetada com a perda de colmeias, principalmente na região sul e sudestes, onde em quase 100% dos estados, houve relatos de desaparecimento ou morte de abelhas.

Uma possível solução para se evitar, ou diminuir o efeito dos inseticidas sobre as abelhas, seria a utilização do manejo integrado de pragas (MIP). O MIP é basicamente constituído da junção de várias técnicas de controle (cultural, químico, físico, legislativo e biológico) aumentando de forma significativa ganhos ambientais e econômicos (GALLO et al., 2002; PROKOPY e KOGAN, 2003). Mas para que o MIP seja eficiente, a maioria dos produtos químicos utilizados em culturas agrícolas deve apresentar seletividade a organismos benéficos, causando o menor efeito possível na biologia desses indivíduos (GRAVENA; LARA, 1976; DEGRANDE et al., 2002).

Apesar de existirem na literatura vários trabalhos científicos relatando o efeito de inseticidas em abelhas, os mesmos na sua maioria são feitos somente com o ingrediente ativo puro negligenciando uma possível relação sinérgica ou antagônica entre o principio ativo e os demais produtos que compõem a formulação final do agrotóxico.

O estudo da interação de defensivos agrícolas e abelhas são de extrema importância econômica e ambiental, possibilitando aos produtores um uso de produtos fitossanitários no controle de pragas com menor risco à vida desses insetos (WOLFF, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ABELHAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO

O trabalho foi realizado no Laboratório de Seletividade de Produtos Químicos, vinculado ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN. Para realização dos bioensaios foram utilizadas abelhas *A. mellifera*, provenientes de três colônias, que se encontram instaladas no Campus da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN. As operárias foram coletadas na entrada do alvado e transportadas em gaiola telada para o laboratório e posteriormente expostas aos inseticidas por duas vias de contato, tópica ou oral, sendo todos os parâmetros toxicológicos determinados através da metodologia sugeria por (MEDRZYCKI et al., 2013) com algumas modificações.

4.2 AGROTÓXICOS TESTADOS

Foram testados cinco agrotóxicos (Actara® 250 WG – Tiametoxam, 250g/Kg); (Evidence® 700 WG – Imidacloprido[1], 700g/Kg); (Orfeu® – Acetamiprido, 200g/Kg); (Focus® WG – Clotianidina, 500g/Kg) e (Nuprid® WG – Imidacloprido[2], 700g/Kg), que apresentam registros no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), para o controle de pragas em várias culturas de importância econômica para o Brasil (AGROFIT, 2016).

Tabela 1. Ingredientes ativos e concentração aplicada nos testes de toxicidade sobre operárias de *Apis mellifera* em condições de laboratório.

Ingrediente Ativo	Dose g i. a./ha	Concentração g i. a./ L de água	Dose ng/abelha	Concentração $ng.\mu L^{-1}$
Tiametoxam	150	0.75 $g.L^{-1}$	200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25; 3.12; 1.56; 0.78; 0.	80; 40; 20; 10; 5; 2.5; 1.25; 0.62; 0.31; 0.
Imidacloprido[1]	210	0.84 $g.L^{-1}$	1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.62; 7.81; 3.9; 0.	160; 80; 40; 20; 10; 5; 2.5; 1.25; 0.62; 0.
Imidacloprido[2]	210	1.25 $g.L^{-1}$	1050; 525; 262.5; 131.25; 65.625; 32.81; 16.4; 8.2; 4.1; 0.	160; 80; 40; 20; 10; 5; 2.5; 1.25; 0.62; 0.
Acetamiprido	60	0.06 $g.L^{-1}$	2000; 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.62; 7.81; 0.	320; 160; 80; 40; 20; 10; 5; 2.5; 1.25; 0.
Clotianidina	60	0.1 $g.L^{-1}$	500; 250; 125; 62.5; 31,25; 15.62; 7,81 ; 3,90; 1.95; 0.	100; 50; 25; 12.5; 6.25; 3.12; 1.56; 0.78; 0.39; 0.

Dose ng/abelha = dose utilizadas para determinar a DL_{50}, tópica; Concentração $ng.\mu L^{-1}$ = concentrações utilizadas para determinar a CL_{50}, oral; Dose g i. a./ha = quantidade máxima de ingrediente ativo recomendado pelo fabricante para o controle de pragas na cultura do meloeiro; Concentração g i. a./ L de água; Concentração máxima de ingrediente ativo recomendado pelo fabricante para o controle de pragas na cultura do meloeiro

4.3 PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS

4.3.1 Determinação do Tempo Letal Médio (TL_{50}) Para Exposição Tópico e Oral

Para determinar a TL_{50} tópica e oral, foi usada como referencia a cultura do melão, já que esses inseticidas são comumente utilizados na região para o controle de pragas nessa cultura. Os inseticidas imidacloprido[1], imidaclopride[2], tiametoxam, clotianidina e acetamirpido, foram diluídos em água destilada para atingir as dosagens máximas recomendada pelos fabricantes para o controle de pragas em áreas de produção de melão (Tabela 1).

Para exposição tópica assumiu-se que a área corporal de uma abelha é igual a 1cm² (MEDRZYCKI et al., 2013), aplicando-se assim, as maiores concentrações dos

diferentes inseticidas, de acordo com o recomendado pelos fabricantes para o controle de pragas em áreas de produção de melão para equivalência a 1cm² (Tabela 1).

Para o teste de contaminação por ingestão, as abelhas foram mantidas em uma estufa a 32 ± 1,0 °C; com 70 ± 5% UR e privadas de alimento por duas horas. Em seguida foi fornecido, durante 3h, alimento (xarope de açúcar 40% acrescido de pesticida) através de tubos Eppendorf de 2mL com uma perfuração na base de 1,2mm de diâmetro, sendo cada produto fornecido nas concentrações máximas recomendada pelos fabricantes (Tabela 1). Após a exposição tópica e oral, as abelhas em ambos os grupos foram acondicionadas em recipientes plásticos e mantidas em uma câmara climatizada do tipo BOD regulada a 32 ± 1,0 °C, 70 ± 5% UR e alimentadas por meio de um tubo, Eppendorf de 2mL, com a base perfurada para permitir acesso ao xarope de açúcar 40% m/v.

Foram montadas seis repetições para cada inseticida testado, contendo 10 abelhas em cada repetição, sendo que o grupo controle recebeu somente água destilada. As abelhas foram observadas no período de 48h, após a aplicação dos tratamentos. A avaliação das abelhas mortas e mudanças comportamentais (prostração, paralisia, tremores, etc.) foram feitas em 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 21.0, 24.0, 30.0 e 36.0 horas após a contaminação das abelhas, sendo consideradas mortas as abelhas que não respondiam aos estímulos mecânicos quando tocadas com auxílio de pincel de ponta fina. A análise estatística referente ao tempo de sobrevivência de sobrevivência foi realizado por meio dos testes de Kaplan-Meier, utilizando – se o programa Bioestat®-versão 5.3.

4.3.2 Determinação da Dose Letal Média Tópica

Para a determinação da DL_{50} tópica foi utilizada a metodologia sugeria por (MEDRZYCKI et al., 2013) com algumas modificações, sendo os inseticidas imidacloprido[1], imidaclopride[2], tiametoxam, clotianidina e acetamiprido, diluídos em água destilada para atingir as doses a serem aplicadas (Tabela 1).

Para determinar a DL_{50}, as abelhas receberam uma 1 µL da solução de inseticida sobre o tórax e após a aplicação, as abelhas foram acondicionadas em potes plásticos de 500 mL com suprimento de água e alimento *ad libitum* e permaneceram em estufa BOD, com temperatura a 32 ± 1 °C e umidade relativa de 70%. Foram montadas cinco

repetições para cada dose testada, contendo 10 abelhas em cada repetição. As abelhas foram observadas no período de 48h, após a aplicação dos tratamentos.

4.3.3 Determinação da Concentração Letal Média Oral

Para o teste de ingestão, as abelhas foram acondicionadas em potes de 500 ml (10 abelhas por pote) e incubadas em uma estufa a 32 ± 1,0 °C; com 70 ± 5% UR e privadas de alimento por duas horas. Em seguida foi fornecido, durante 3h, alimento (xarope de açúcar 40% acrescido de pesticida) através de tubos Eppendorf de 2mL com uma perfuração na base de 1,2mm de diâmetro, sendo cada produto fornecido nas respectivas concentrações (Tabela 1), após o período de exposição, as abelhas receberam *ad libitum* alimento sem pesticida. Assim como na determinação da DL_{50}, foram montadas cinco repetições para cada dose testada, contendo 10 abelhas em cada repetição, sendo as abelhas observadas no período de 48h, após a aplicação dos tratamentos e a CL_{50}, calculada através da regressão logística, utilizando – se o programa Bioestat®-versão 5.3.

4.3.4 Determinação do Coeficiente de Risco e Classificação Toxicológica

Os produtos foram classificados toxicologicamente de acordo com a classificação sugerida por Felton et al. (1986), que baseia-se na quantidade de ingrediente ativo, exposto topicamente ou oralmente, que é capaz de matar 50% da população testada (Dose $Letal_{50}$). Desta forma os inseticidas são classificados como: altamente tóxico (DL_{50}< 1.0 µg i.a/abelha); moderadamente tóxico (DL_{50} de 1-10 µg i.a./abelha); ligeiramente tóxico (DL_{50} de 10-100 µg i.a./abelha); inócuo (DL_{50} > 100 µg i.a./abelha). Para a determinação do coeficiente de risco (HQ) foi utilizada a equação: HQ = Taxa de aplicação Recomendada pelo fabricante para cada cultura e cada praga (g i.a./ha) / DL_{50} (µg/abelha), Onde; um HQ > 50 significa um alto risco para as abelhas.

5 RESULTADOS

5.1 TEMPO LETAL (TL_{50}), TÓPICO E ORAL

Independentemente do modo de exposição, aos inseticidas a base de tiametoxam, clotianidina, imidaclopride e acetamiprido, causaram sintomas de intoxicação neurológica sobre as abelhas, ocorrendo distúrbios de coordenação motora, seguida por prostração e morte.

Todos os produtos testados de forma tópica ocasionaram 100% de mortalidade, no entanto houve diferença entre o Tempo Letal de todos os inseticidas expostos de forma tópica (Figura 1).

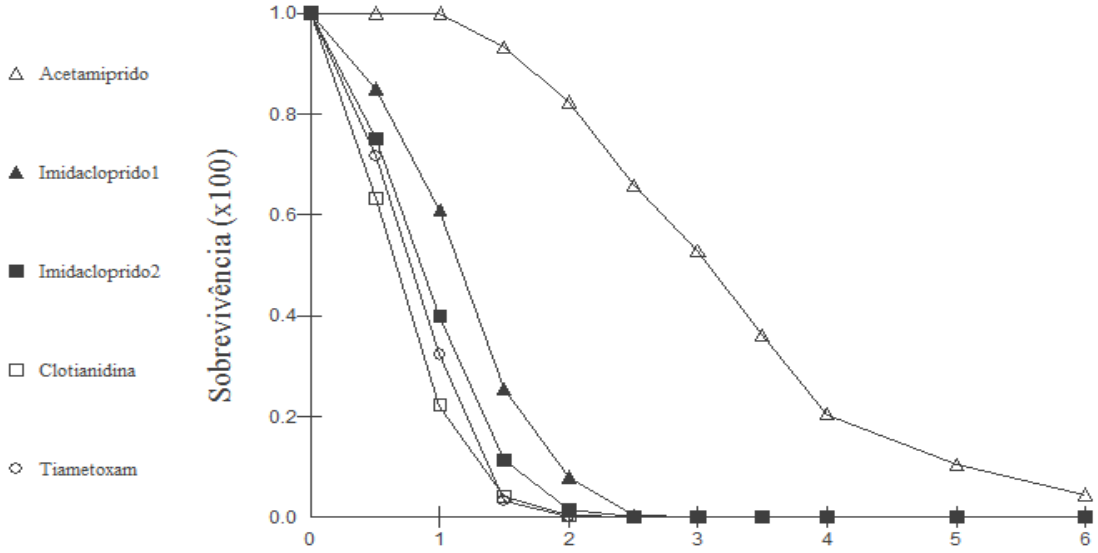

Figura 1- Tempo letal (TL_{50} em horas) de abelhas *Apis mellifera* após exposição tópica aos inseticidas comerciais formulados à base de neonicotinoides.

Apesar de o tiametoxam ter ocasionado a mortalidade de 100% dos insetos em 2h em quanto a clotianidina demorou 2.5h para ocasionar o mesmo resultado, pode-se observar que a clotianidina, matou mais abelhas no inicio apresentando uma TL_{50} de 0.61h, inferior ao do tiametoxam TL_{50} de 0.7h (Figura1).

Com relação, aos dois produtos que apresentam imidacloprido, em suas formulações, também apresentaram uma alta mortalidade em um curto espaço de tempo,

mas houve uma diferença entre suas TL_{50}, sendo a TL_{50} do imidacloprido[1] igual a 1.03h e a TL_{50} do Imidacloprido[2] de 0.79h. Já o acetamiprido com a TL_{50} de 3.85h, foi o inseticida que demorou mais tempo para matar as abelhas.

Assim, como na exposição tópica, a exposição oral ocasionou a mortalidade em 100% das abelhas, apresentando no Tempo letal (Figura 2).

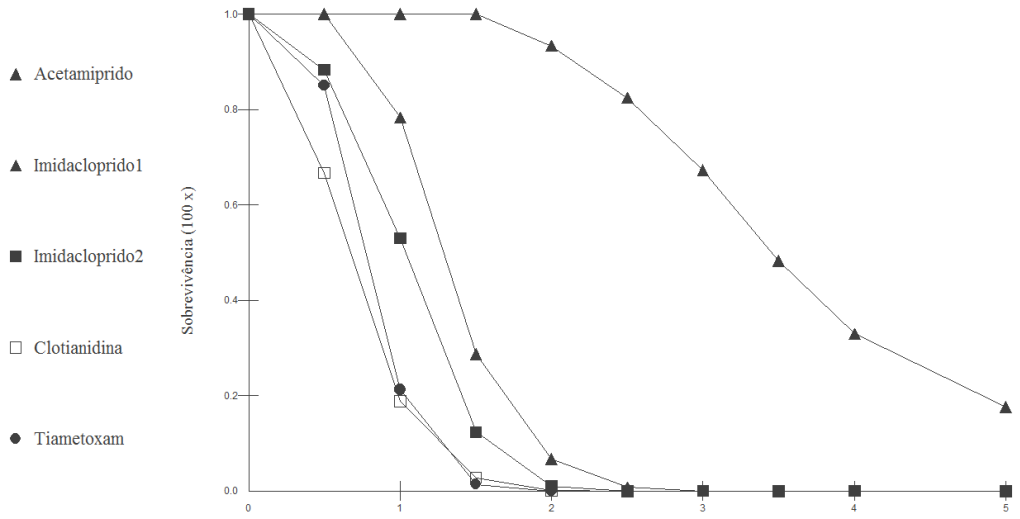

Figura 2- Tempo letal (TL_{50} em horas) de abelhas *Apis mellifera* após exposição oral aos inseticidas comerciais formulados à base de neonicotinoides.

Entre, todos os pesticidas testados, o acetamiprido, foi o que mostrou à maior $TL_{50,}$ com o valor de 4.2h, todos os demais inseticidas tiveram TL50 muito baixas, mostrando a rapidez com que estes inseticidas matam as abelhas (Figura 2).

5.2 DETERMINAÇÃO DA DOSE LETAL MÉDIA (TL_{50}) E CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (DL_{50})

Através dos dados obtidos, com as DL_{50}, pode-se, constatar que todos os pesticidas, mostraram-se altamente tóxicos, sendo o Tiometoxam o inseticida com a maior toxicidade seguida pela clotianidina, < Imidaclopride[1], < Imidaclopride[2], <Acetamiprido (Tabela 1).

Com base nas CL_{50}, obtidas através dos testes por ingestão, observou-se que, as abelhas *Apis mellifera*, são altamente susceptíveis aos pesticidas a base de tiometoxam,

clotianidina, imidaclopride[1], imidaclopride[2], acetamiprido, onde todos os pesticidas apresentaram uma CL_{50}, menor que as concentrações recomendadas para a aplicação dos inseticidas a campo de acordo com os fabricantes (Tabela 1).

Tabela 2. Classificação toxicológica de pesticidas para *Apis mellifera* determinada em função da DL_{50}, mais a CL_{50}.

Ingrediente Ativo	**DL_{50} ng/abelha**	**Z**	**CL_{50} ng.µl^{-1}**	**Z**	**Classe Toxicológica**
Clotianidina	10.5	8.48	6.8	6.91	1
Tiametoxam	7.5	6.57	5.6	8.72	1
Acetamiprido	131.0	8.96	50.8	9.51	1
Imidacloprido[1]	38.0	8.79	24.4	8.01	1
Imidacloprido[2]	57.0	8.47	27.8	9.98	1

Z= valor de Z > 1,5 significa que os parâmetros são estatisticamente significativos; Classe Toxicológica = classificação toxicológica proposta por Felton et al. (1986): Classe 1 = altamente tóxico (DL_{50}< 1,0 µg i.a./abelha); DL50 = dose letal capas de matar 50% da população exposta; CL_{50} = concentração letal capaz de matar 50% da população exposta .

5.3 COEFICIENTE DE RISCO E CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA

Com os resultados obtidos através da DL_{50}, pode-se constatar, que dentre todas as culturas avaliadas, a da Cana-de-açúcar foi a que apresentou o maior coeficiente de riscos com o HQ = 33.333,3; seguida pelas seguintes Culturas: Abacaxi HQ = 26666,7; Mamão 26.666,6; Uva HQ = 22.666,7; Melão HQ = 20.000,0; Melancia HQ = 20000,0; Pimentão HQ = 20.000,0; Algodão HQ = 9.523,8; Tomate HQ = 6666,7; Feijão HQ = 6.666,7; Arroz HQ 4.733,3; (Tabela 3).

Vale salientar que, além da diferença do coeficiente de riscos entre as culturas e as classes de inseticidas avaliadas, houve uma diferença notável do coeficiente de risco de um mesmo inseticida dentro de uma mesma cultura, quando a praga era diferente e de um mesmo produto em culturas diferentes devido à dosagem recomendada ser diferente (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficiente de risco (HQ) de neonicotinoides sobre abelhas *Apis mellifera* (africanizadas), quando utilizados em diferentes culturas para o controle de insetos praga.

Culturas	Insetos – Praga	Produtos	g i. a./ha	HQ
Abacaxi	*Dysmicoccus brevipes*	Tiametoxam	75	10000,0
	Procorniter messtriatus	Tiametoxam	200	26666,7
	Dysmicoccus brevipes	Imidacloprido[1]	537.6	14147,4
Algodão	Aphis gossypii	Tiametoxam	50	6666,7
	Franklin iellaschultzei	Tiametoxam	50	6666,7
	Bemisia tabaci raça B	Tiametoxam	50	6666,7
	Aphis gossypii	Imidacloprido[1]	49	1289,6
	Franklin iellaschultzei	Imidacloprido[1]	70	1842,1
	Aphis gossypii	Imidacloprido[2]	49	859,6
	Aphis gossypii	Clotianidina	100	9523,8
	Aphis gossypii	Acetamiprido	20	152,7
Cana-de-açúcar	*Mahanarva fimbriolata*	Tiametoxam	250	33333,3
	Heterotermes tenuis	Tiametoxam	80	10666.7
	Heterotermes tenuis	Imidacloprido[2]	280	4912,3
	Heterotermes tenuis	Imidacloprido[1]	280	7368,4
Melão	*Bemisia tabaci* raça B	Tiametoxam	30	4000,0
	Aphis gossypii	Tiametoxam	150	20000,0
	Aphis gossypii	Imidacloprido[1]	70	1842,1
	Thrips palmi	Imidacloprido[1]	70	1842,1
	Bemisia tabaci raça B	Imidacloprido[1]	210	5526,3
	Bemisia tabaci raça B	Imidacloprido[2]	210	3684,2
	Bemisia tabaci raça B	Clotianidina	60	5714,3
	Bemisia tabaci raça B	Acetamiprido	60	458,0
	Aphis gossypii	Acetamiprido	60	458,0
Tomate	*Bemisia tabaci* raça B	Tiametoxam	50	6666,7
	Bemisia tabaci	Tiametoxam	50	6666,7
	Frankliniella schultzei	Tiametoxam	50	6666,7
	Myzus persicae	Tiametoxam	37.5	5000,0

Culturas	Insetos – Praga	Produtos	g i. a./ha	HQ
Tomate	*Bemisia tabaci*	Imidacloprido[1]	140	3694,2
Tomate	*Thrips palmi*	Imidacloprido[1]	140	3694,2
	Myzus persicae	Imidacloprido[1]	140	3694,2
	Bemisia tabaci raça B	Imidacloprido[1]	210	5526,3
	Bemisia tabaci raça B	Imidacloprido[2]	210	3684,2
	Myzus persicae	Imidacloprido[2]	140	2456,1
	Bemisia tabaci raça B	Clotianidina	80	7619,0
	Myzus persicae	Acetamiprido	50	381,7
	Frankliniella schultzei	Acetamiprido	50	381,7
	Bemisia tabaci raça B	Acetamiprido	80	610,7
Melancia	*Bemisia tabaci* raça B	Imidacloprido[1]	210	5526,2
	Aphis gossypii	Imidacloprido[1]	140	3684,2
	Thrips palmi	Imidacloprido[1]	140	3684,2
	Bemisia tabaci raça B	Tiametoxam	30	4000,0
	Aphis gossypii	Tiametoxam	150	20000,0
	Bemisia tabaci raça B	Acetamiprido	60	458,0
	Aphis gossypii	Acetamiprido	60	458,0
Feijão	*Empoasca kraemeri*	Tiametoxam	50	6666,7
	Bemisia tabaci raça B	Tiametoxam	50	6666,7
	Diabroticas peciosa	Tiametoxam	50	6666,7
	Bemisia tabaci	Imidacloprido[1]	175	4605,3
	Empoasca kraemer	Imidacloprido[1]	105	2763,2
	Diabrotica speciosa	Imidacloprido[1]	105	2763,2
	Bemisia tabaci	Imidacloprido[2]	175	2754,4
	Empoasca kraemeri	Imidacloprido[2]	91	1596,5
	Bemisia tabaci raça B	Acetamiprido	60	458,0
Pimentão	*Bemisia tabaci*	Imidacloprido[1]	140	3684,2
	Myzus persicae	Imidacloprido[1]	140	3684,2
	Thrips palmi	Imidacloprido[1]	140	3684,2
	Bemisia tabaci raça B	Imidacloprido[1]	210	5526,3
	Myzus persicae	Tiametoxam	150	20000,0
	Diabrotica speciosa	Tiametoxam	150	20000,0

Culturas	Insetos – Praga	Produtos	g i. a./ha	HQ
Pimentão	*Bemisia tabaci* raça B	Tiametoxam	150	20000,0
Arroz	*Tibraca limbativentris*	Tiametoxam	37.5	4733,3
Arroz	*Oryzophagus oryzae*	Tiametoxam	37.5	4733,3
Mamão	*Aphis gossypii*	Tiametoxam	150	20000,0
Mamão	*Empoasca spp.*	Tiametoxam	200	26666,6
Uva	*Eurhizococcus rasiliensis*	Tiametoxam	170	22666,7

g i. a./ha = quantidade de ingrediente ativo recomendado pelo fabricante para o controle de pragas por hectare; HQ = Coeficiente de Risco calculado através da relação entre a DL_{50} e da concentração de ingrediente ativo recomendado para cada praga.

6 DISCUSSÃO

6.1 SOBREVIVÊNCIA DE *A. mellifera* APÓS A EXPOSIÇÃO TÓPICA E ORAL

As abelhas expostas às dosagens recomendadas para a cultura do meloeiro, independente da forma, apresentaram distúrbios neurológicos seguido de morte. Esses sintomas, de acordo com Tomizawa e Casida (2005) ocorrem devido os neonicotinoides atuarem como agonistas do receptor pós-sináptico nicotínico da acetilcolina (nAChR) causando hiperexcitabilidade em insetos.

A maioria dos produtos testados causou a morte de todas as abelhas entre 2,5 e 3,5 h, após contato tópico ou oral com os inseticidas, exceto o acetamiprido, onde 100% das abelhas morreram entre 30 e 36 horas para aplicação tópica e oral, respectivamente, demonstrando ser um inseticida que leva mais tempo para ocasionar efeitos de toxicidade nas abelhas.

Pesquisas precisam serem feitas para avaliar os efeitos de inseticidas com baixa e alta TL50 em relaão à colônia como um todo, pois, no caso de TL50 baixa existe uma probabilidade maior de que pouco alimento seja armazenado na colmeia uma vez que a forrageira morreria logo, enquanto que aqueles inseticidas com TL50 mais altos existiria uma chance maior das abelhas coletarem e armazenarem mais alimento contaminado, oferecendo um risco maior para a colônia como um todo, pois, este alimento (néctar)

será mais manuseado por trofalaxis e para ser desidratado, levando-o a uma concentração de aproximadamente quatro vezes maior, podendo tornar os efeitos tóxicos mais evidentes.

As diferenças entre os valores do tempo letal possivelmente ocorreram devido as particularidades química entre as classes de neonicotinoides testadas, como relatada por Iwasa et al. (2004). No caso do acetamiprido, sua elevada TL_{50}, quando comparada com os demais neonicotinoides, provavelmente esteja associada aos processos metabólitos. Brunet; Badiou; Belzunces (2005) ao estudar o metabolismo do acetamiprido em *Apis mellifera* concluíram que este inseticida pode ser rapidamente metabolizado em várias regiões do corpo do inseto, transformando-se em substâncias menos tóxicas.

Diferente do acetamiprido, o tiametoxam gera um metabólito N-desmetil-tiametoxam, que é extremamente mais tóxico que o próprio ingrediente ativo (WIESNER; KAYSER, 2000). Outro fator que pode afetar o tempo letal de cada princípio ativo é o seu coeficiente de partição octanol-água ($logK_{OW}$).

De acordo com a IUPAC (2015), tiametoxam apresenta coeficiente de partição de -0.13, clotianidina de 0.905, acetamiprido de 0.8 e imidacloprido igual a 0.57. Considerando que ingredientes ativos com log Kow< 0 são mais solúveis em água e log Kow> 0 é mais hidrofóbica, a absorção dos inseticidas podem ser alterados por outros fatores que podem estar presentes na formulação (BARRIGOSSI; LANNA; FERREIRA, 2005; NÖRNBERG et al., 2008), potencializando ou não a ação do inseticida.

As TL_{50} para os inseticidas imidaclopride[1], imidaclopride[2], que apesar de apresentarem os mesmos ingredientes ativos, são formulados por empresas distintas, podem ser um exemplo dos efeitos dos produtos supostamente inertes presentes nas formulações sobre o coeficiente de partição, possibilitando toxicidades diferentes sobre os organismos.

Williamson et al. (1989); Plugis e Boone (2011) relataram uma maior toxicidade de produtos formulados quando comparados aos seus princípios ativos isolados, atribuindo na ocasião uma possível ação adjuvante dos produtos inertes. Tais resultados ressaltam a importância de se avaliar a toxicidade de inseticidas comerciais, pois caso o inseto seja atingido diretamente pelo produto no campo, ele estará entrando em contato tanto com o produto ativo como com as demais substâncias que compõe o inseticida formulado comercialmente.

Geralmente em estudos visando os efeitos dos inseticidas sobre as abelhas em condições de laboratório, são utilizados somente os ingredientes ativos ao invés dos produtos comerciais, subestimando Desta forma, em alguns casos, em alguns casos o real efeito dos produtos fitossanitários. Apesar das diferenças observadas entre os nossos resultados de tempo letal (TL_{50}) e aqueles obtidos por diferentes autores (CARVALHO et al., 2009; THOMAZONI et al., 2009; BOILY et al., 2013; SOUZA, 2015), provavelmente, elas sejam provenientes das diferentes condições experimentais utilizadas em cada bioensaio, no entanto, todos os resultados todos demonstram a alta toxicidade dos neonicotinoides analisados em relação às abelhas.

Os resultados obtidos indicam a necessidade de restringir o uso destes tipos de inseticidas durante todo o período da florada do melão e durante o período que a antecede, pois todos os inseticidas testados apresentam efeito residual (AGROFIT, 2016), uma vez que, quanto menor o intervalo entre a aplicação e a florada, maior as probabilidade das abelhas coletarem recursos florais contaminados intoxicando-as.

Apesar de não ter sido realizado estudos específicos dos efeitos desses produtos sobre a colônia, Desneux et al. (2007); Heylen et al. (2011) e Blacquiere et al. (2012) relatam que inseticidas em doses subletais podem ocasionar intoxicações crônicasdas abelhas e, consequentemente, afetar a sua biologia. Portanto, seria importante estudar estes aspectos antes de se recomendar estes inseticidas. Resultados ainda não publicados(D.Message, informação pessoal), obtidos ao longo de uma florada de uma grande plantação de melão situada a 900 metros de um apiário comercial, no município de Mossoró, RN, apresentaram quedas bruscas da população de abelhas em praticamente todas as colmeias do apiário, porém, sem abelhas mortas dentro das colmeias e na frente do alvado, sugerindo uma mortalidade aguda ainda no campo.

Esses dados foram evidenciados pelo tamanho da população adulta em relação à área de cria, uma vez que, a população restante não apresentava número suficiente de abelhas para cobrir a área de cria avaliada. Cerca de 40% das colmeias foram exterminadas Em menos de um mês e outras 10% logo após iniciar o fornecimento de alimento em alimentadores individuais. A maioria das colmeias sobreviventes foi transferida para apiários a uma distância de, com aproximadamente sete a oito quilômetros da plantação de melão, onde foram alimentadas individualmente, mesmo assim algumas continuaram reduzindo até a completa extinção da população ou abandonaram a colmeia.

Esta continuação da mortalidade de abelhas e o extermínio de algumas colmeias, mesmo estando longe do apiário de origem e da fonte de contaminação, pode ter ocorrido pela presença de mel e pólen contaminado, embora a maioria dos favos contendo estes alimentos terem sido previamente removidos. Algumas destas colmeias podem ter sido exterminadas devido aos efeitos dos inseticidas neonicotinoides sobre a fisiologia das rainhas, reduzindo sua postura acarretando, consequentemente, a sua substituição (SANDROCK et al., 2014;WILLIANS et al., 2015). Neste último caso, considerando o período de extrema seca na região do bioma caatinga, onde estão inseridas as colmeias, a nova rainha poderia não ser fecundada por ausência de zangões ou ser predada por pássaros, levando ao extermínio da colônia.

SILVA et al. (2015), em condições similares, encontraram 13 tipos diferentes de inseticidas contaminando o mel de colmeias que estavam sendo utilizadas para polinização de culturas do melão, tendo detectado a presença dos seguintes neonicotinoides: acetamiprido, imidacloprido e tiametoxan em 26.1%, 30.4% e 34.8% das colmeias, sendo a quantidade máxima detectada igual a 32,3 $ug.kg^{-1}$, 106.0 $ug.kg^{-1}$ e 19.1$ug.kg^{-1}$, respectivamente. Isto demonstra a frequência do uso de neonicotinoides nas plantações de melão da região de Mossoró, RN, embora outros 10 inseticidas também tenham sido detectados, alguns, como o parathion ethyl (Folidol®), que foi encontrado em 100% das amostras de mel coletadas, apresentando uma concentração altíssima da ordem de 2912.1ug.kg-1.

6.2 TOXICIDADE DE NEONICOTINÓIDES ÀS ABELHAS *Apis mellifera*

Os resultados obtidos corroboram com os aqueles descritos por Rhodes; Scott, (2006); Laurino et al. (2011); Decourtye e Devillers, (2010), os quais mostraram que independente da classe toxicológica ambiental em que estão sendo comercializados, os neonicotinoides são altamente tóxicos para abelhas *A.mellifera.*

Através das DL_{50} obtidas, constatou-se que o tiametoxam apresentou a maior toxicidade seguida pelos princípios ativos clotianidina, imidacloprido e acetamiprido. Essa diferença toxicológica entre Os diferentes tipos de neonicotinoides de neonicotinoides, também foi relatada por Iwasa et al., (2004), que atribuiu na ocasião ao

arranjo estrutural das moléculas, onde o agrupamento N-nitroguanidina, confere uma toxicidade maior do que o grupo formado pelo o agrupamento N-ciano-amidina.

Levando em consideração que, independente da cultura ou praga, se todos os inseticidas testados, fossem utilizadas na dosagem recomendada pelos fabricantes (AGROFIT, 2016) que é superiora á DL_{50} encontrada na presente pesquisa, é provável que as abelhas no momento do forrageamento, ao entrarem em contato com esses inseticidas, seriam eliminadas rapidamente.

Uma redução drástica e continua de abelhas forrageiras pode acarretar em sérios problemas para a manutenção da colônia, inclusive levando-a ao colapso (HENRY et al., 2012).

Esses relatos são preocupantes, pois o uso de neonicotinoides é comum no Brasil, principalmente o imidacloprido, onde segundo o (IBAMA, 2016) é o décimo agrotóxico mais utilizado no país, com um consumo anual de 7.940,82 t de ingrediente ativo. Outro fator preocupante é que muitos neonicotinoides são associados a outros princípios ativos, como piretroides, antranilamidas e triazois (AGROFIT, 2016), podendo ter a sua toxicidade sobre as abelhas potencializada.

Em relação à mortalidade ocasionada pela ingestão de alimento contaminado com tiametoxam, clotianidina, imidacloprido[1], imidacloprido[2] e acetamiprido, observou-se nas respectivas CL_{50}, 5.6 $ng.\mu L^{-1}$, 6.8 $ng.\mu L^{-1}$, 50.8 $ng.\mu L^{-1}$, 24.4 $ng.\mu L^{-1,}$ 27,8 $ng.\mu L^{-1}$, que as abelhas contaminadas por ingestão apresentaram uma alta sensibilidade a todos os neonicotinoides, com CL_{50} bem abaixo da concentração recomendada para as condições de campo.

Essa alta toxicidade dos neonicotinoides, também foi relatada por Oliveira et al., (2013) para *A. mellifera* com a concentração letal (CL_{50}) do tiametoxam igual 4.28 ng i.a./µL e Soares et al. (2015) com concentração letal (CL_{50}) para o imidacloprido sobre *Scaptotrigona postica* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae) de 14.28 ng i.a./µL. Apesar de ser pouco provável uma intoxicação aguda por ingestão, é importante salientar que todos esses produtos apresentam um alto poder residual (AGROFIT, 2016).

Isso significa, que mesmo não sendo expostas diretamente às caldas de inseticidas, as abelhas que forrageam em áreas tratadas com esses agrotóxicos, provavelmente estarão coletando recursos florais com resíduos de neonicotinoides, promovendo em muitas ocasiões a contaminação indireta da colônia. Silva et al., (2015) ao analisar quimicamente o mel de colmeias que são utilizadas para polinização do melão, detectou concentrações máximas do inseticidas acetamiprido, imidacloprido e

tiametoxam, em níveis da ordem de 32,3 $ug.kg^{-1}$, 106.0 $ug.kg^{-1}$ e 19.1$ug.kg^{-1}$, respectivamente, em aproximadamente 1/3 das colmeias analisadas.

Tal situação pode ser tão danosa quanto à exposição aguda, pois o efeito de doses subletais de neonicotinoides pode afetar negativamente tanto as interações sociais, como a orientação geral das abelhas (BORTOLOTTI et al., 2003; HENRY et al., 2012) além de causar danos na fisiologia das rainhas, provocando redução na postura (SANDROCK et al., 2014; WILLIAMS et al., 2015), podendo causar com isso a sua substituição.

6.3 COEFICIENTE DE RISCO DE NEONICOTINOIDES SOBRE AS ABELHAS

Apesar de estudos de avaliação de risco de produtos fitossanitários apresentarem uma alta complexidade, haja visto, que há inúmeras variáveis envolvidas na determinação do risco e que influenciam a toxicidade de um produto no ambiente, as quais vão desde a concentração do ingrediente ativo, a outros fatores, como por exemplo, o tempo de exposição ao agrotóxico (WAICHMAN, 2008); além de fatores ambientais, como o tamanho da área (FREITAS e PINHEIRO, 2010).

O coeficiente de risco (HQ) mostrou-se eficiente na comparação de toxicidade de inseticidas, pois o mesmo, por levar em consideração as diferentes dosagens recomendadas para as diferentes culturas e para os diversos insetos pragas, pode-se quantificar e comparar diretamente a periculosidade dos produtos recomendados em relação a um inseto útil como as abelhas. As altas variações do coeficiente de risco para as abelhas *A. mellifera*, explica-se pelo fato de que há diferentes dosagens recomendadas para uma mesma praga em cultivos diferentes e para pragas diferentes em um mesmo cultivo. Em todos estes casos a concentração máxima recomendada pelo fabricante é diferente para cada caso.

Esses resultados são de extrema importância para subsidiar uma futura implantação do manejo integrado de pragas, pois o uso de agrotóxicos seletivos é uma das principais estratégias desse programa. A utilização de agrotóxicos seletivos, atrelado a sua utilização somente quando necessária, talvez seja a principal forma de minimizar o impacto causado pela agricultura às abelhas.

Na pesquisa realizada, observou-se que todos os inseticidas testados independentemente da cultura ou praga, apresentaram HQ maior que 50 (Tabela 1). Estes altos valores do HQ, também foram relatados por Laurino et al. (2011), demonstrando a necessidade de substituir ou restringir o uso dos mesmos, devido aos altos riscos toxicológicos para os polinizadores

Risco dessa magnitude é inaceitável, pois além de danos ambientais o uso dessa classe de inseticida pode causar perdas econômicas, pois o déficit de polinizadores é um dos principais entraves para o aumento de produtividade de várias culturas (GARIBALDI et al., 2016).

A diminuição de polinizadores em algumas culturas avaliadas, como por exemplo, a maçã, morango, café, cebola, citros, feijão, cucurbitáceas e solanáceas, que apresepntam algum grau de dependência das abelhas para a sua produção (WITTER; BLOCHTEIN, 2003; SILVA; HRNCIR; FONSECA, 2010; GIANNINI et al., 2015.), ficariam comprometidas, com perdas significativas nas produtividades, com reflexos negativos na economia agrícola nacional, pois são culturas de extrema importância para o agronegócio brasileiro, além de constituírem a parte da dieta da população brasileira.

A respeito das demais culturas, que aparentemente não tem as abelhas como fator de produção, o uso desses inseticidas pode afetar outro seguimento importante do agronegócio brasileiro que é a produção de mel, pois além dos fatores mencionados anteriormente que afetam negativamente a biologia das colônias, as abelhas ao coletarem néctar contaminado durante o forrageamento destas culturas suas colmeias teriam o mel contaminado com esses resíduos, como relatado por Rissato et al. (2006) e por Silva et al.(2015). Devido à exigência do mercado atual, resíduos de agrotóxicos podem ser catastróficos para a cadeia produtiva do mel, principalmente, para as regiões Sul e Sudeste do Brasil que comumente utiliza as floradas de eucalipto e citros para sua produção.

Mesmo com alertas de muitos pesquisadores relatando que os neonicotinoides são altamente tóxicos, como Carvalho et al. (2009) ao estudar a toxicidade de inseticidas utilizados nos citros, Thomazoni et al. (2009) no algodão e Costa et al. (2014) no melão, o uso desses produtos têm sido cada vez mais comum nas lavouras brasileiras, possivelmente pela sua eficiência no controle de pragas.

Porém, levanta-se a hipótese também da falta de informação dos agricultores sobre a toxicidade destes inseticidas sobre organismos benéficos, principalmente em

relação aos polinizadores, insetos fundamentais em algumas cadeias produtivas, conduzindo os produtores ao uso equivocado desses inseticidas.

7 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para todos os parâmetros avaliados, os inseticidas, (**Actara® 250 WG** – tiametoxam), (**Focus® 500 WG** – Clotianidina), **(Orfeu® 200 WG** – acetamipride), (**Evidence® 700 WG –** imidaclopride) e (**Nuprid® 700 WG–** imidaclopride) mostraram-se altamente tóxicos, sendo o tiametoxam o inseticida que apresentou à maior toxicidade às abelhas *A. mellifera*, seguida pela clotianidina, > imidacloprido[1],> imidacloprido[2], > acetamiprido.

Produtos formulados por empresas diferentes, mesmo apresentando concentração e ingrediente ativo semelhante, apresentaram parâmetros toxicológicos diferentes.

Tal resultado ressalta a importância de se fazer teste de toxicidade com produtos comerciais, pois os adjuvantes utilizados na formulação podem potencializar o efeito dos produtos. Todos os inseticidas avaliados apresentaram coeficiente de risco para as abelhas muito acima do valor aceitável (50), se fossem utilizados nas doses máximas recomendadas pelos fabricantes.

Levando em consideração a hipótese que a maioria dos trabalhos de certa forma subestima o efeito dos inseticidas, além do fato que os inseticidas são utilizados em larga escala no Brasil, pode-se concluir que tanto os serviços de polinização quanto a produção de produtos apícolas no Brasil, estão mais ameaçados do que se pensava, confirmando a previsão de Gonçalves (2012) de que se não forem tomadas sérias medidas a apicultura brasileira, passará por sérios problemas.

Uma medida de caráter urgente seria restringir ao máximo estes produtos com alto coeficiente de risco, substituindo todo o grupo de neonicotinoides, por outros com maior seletividade, ou seja, que matassem as pragas preservando os artrópodes benéficos. Além disso, a seletividade ecológica também deve ser enfatizada, evitando o uso de inseticidas, principalmente em períodos próximos a floradas.

Outra pratica importante, seria, manter os apiários distantes no mínimo a oito quilômetros, para reduzir as possibilidades de contacto das abelhas com os resíduos de

agrotóxicos, que podem estar presentes no néctar, pólen e exsudações de água, evitando uma possível contaminação do mel e pólen. Para as colmeias utilizadas em programas de polinização, uma possível solução para reduzir os danos ocasionados pelos inseticidas, seria a introdução das colmeias no cultivo somente pouco tempo antes da florada reduzindo ao máximo o tempo de exposição das colmeias aos inseticidas.

Contudo, vale salientar, que nenhuma pratica amigável aos polinizadores será tomada se não existir, a conscientização dos produtores agrícolas, sobre a importância das abelhas para a produção agrícola, sendo a não capacitação desses produtores o principal entrave para o desenvolvimento tanto da apicultura como de vários setores agrícolas.

REFERÊNCIAS

ABEMEL; Associação Brasileira dos Exportadores de Mel. **Relatorios Atuais**. Disponível em: http://brazilletsbee.com.br/inteligencia_comercial_abemel_outubro_2015.pdf. . Acesso em 15 fev. 2016.

ABRASCO, Associação Brasileira de Saúde Coletiva. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. 2015. Disponível em: http://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wpcontent/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf. Acesso em 15 fev. 2016.

AGROFIT: Sistema de agrotóxicos fitossanitários. 2016. Disponível em:http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 15 fev. 2016.

ALAUX, et al. Interactions between Nosema microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (Apis mellifera). **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 774-782, 2010.

BACCI, L. et al. Eficiência e seletividade de inseticidas para o manejo de mosca branca e inimigos naturais em melancia. **Ceres**, v. 54, n. 311, 2015.

BAPTISTA, A.P.M. ; CARVALHO, G.A. CARVALHO, S.M. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para Apis mellifera. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p.955-961, 2009.

BARBOSA, A. D. L. et al. **Criação de abelhas (Apicultura)**. 113p. 2007. Disponível em < http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/126300/1/00081610.pdf> Acesso em: 20 jan. 2016.

BARRIGOSSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. Inseticidas registrados para a cultura do arroz e análise de parâmetros indicadores de seu comportamento no

ambiente. **Embrapa Arroz.** Disponível em:<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAF/23540/1/circ_74.pdf>. Acesso em 27 de setembro de 2005.

BEE ALERT/SEM ABELHAS SEM ALIMENTOS. Disponível em:< http://www.semabelhasemalimento.com.br/beealert/. >. Acesso em: 20 fev. 2016.

BLACQUIERE, T. et al. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973-992, 2012.

BOILY, M., et al. Acetylcholinesterase in honey bees (Apis mellifera) exposed to neonicotinoids, atrazine and glyphosate: laboratory and field experiments. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 8, p. 5603-5614, 2013.

BORTOLOTTI, L. et al. Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. **Bulletin of Insectology**, v. 56, p. 63-68, 2003.

BOTH, J.; KATO, O. R.; OLIVEIRA, T. F. Perfil socioeconômico e tecnológico da apicultura no município de Capitão Poço, estado do Pará, Brasil. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, v. 5, n. 9, 2009.

BRUNET, J. L.; BADIOU, A.; BELZUNCES, L. P. In vivo metabolic fate of [C-14]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, Apis mellifera L. **Pest Management Science**, Chichester, v. 61, n. 8, p. 742-748, 2005.

CAMERON, S. A. et al. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 2, p. 662-667, 2011.

CARSON, R.L. **Silent spring**. Boston: Houghton Mifftlin Co., 1962. 368 p.

CARVALHO, S. M. et al. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para abelha africanizada *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 597-606, 2009.

CASTILHOS, R. V. et al. Seletividade de agrotóxicos utilizados em pessegueiro sobre ovos e pupas do predador *Chrysoperla externa*. **Ciência Rural**, v. 44, n. 11, p. 1921-1928, 2014.

COSTA, E. M., et al. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee Apis mellifera under laboratory conditions. **Apidologie**, v. 45, n. 1, p. 34-44, 2012.

CRUZ, A. da S. et al. Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee (Apis mellifera L.) larvae. **Cell Biology and Toxicology**, v. 26, p. 165-176, 2010.

D'AVILA, M.; MARCHINI, L. C. Polinização realizada por abelhas em culturas de importância econômica no Brasil. ***Boletim de Indústria Animal***, v. 62, n. 1, p. 79-90, 2005.

DECOURTYE, A. et al. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee Apis mellifera. **Archives of Environmental Contaminationand Toxicology**, v.48, p.242-250, 2005.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In: Thany SH (ed) **Insect nicotinic acetylcholine receptors**, 1st edn. Springer, New York, pp 85–95. 2010

DEGRANDE, P. E. et al. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. p.75-81 In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole Ltda. 2002

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Reviews Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.

DIAMANTINO, E. P. et al. Seletividade de inseticidas a alguns dos inimigos naturais na cultura do algodão. **Arquivos do Instituto Biológico,** São Paulo, v. 81, n. 2, p. 150-158, 2014.

FELTON, J. C.; OOMEN, P. A.; STEVENSON, J. H. Toxicity and hazard of pesticides to honeybees: harmonization of test methods. **Bee World**, v. 67, n. 3, p. 114-124, 1986.

FONSECA, V. L. I. et al. Desaparecimento das abelhas meliferas e a perspectiva do uso de outras abelhas na polinização.. Documentos (Embrapa Semi-Árido. Online), v. 249, p. 210-233, 2012. Disponível em http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/69296/1/Abelha.pdf. Acesso em: 20 set. 2015.

FREITAS, B. M.; PINHEIRO, J. N. Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 282-298, 2010.

FREITAS, D. G. F.; KHAN, A. S.; SILVA, L. M. R.. Nível tecnológico e rentabilidade de produção de mel de abelha (Apis mellifera) no Ceará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 42, n. 1, p. 171-188, 2004.

FUZITA, A. T. et al. Comparação da sensibilidade do ácaro-praga *Brevipalpus phoenicis* e do predador *Agistemus brasiliensis* a agroquímicos. **Coffee Science**, v. 9, n. 1, p. 102-109, 2014.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. São Paulo: FEALQ/Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz. 2002. 920 p.

GARIBALDI, L. A. et al. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. **Science**, v. 351, n. 6271, p. 388-391, 2016.

GIANNINI, T. C. et al. The Dependence of Crops For Pollinators and The Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n.3 p. 847-857, 2015.

GILL, R. J.; RAMOS-RODRIGUEZ, O.; RAINE, N. E. Combined pesticide exposure severely affects individual-and colony-level traits in bees. **Nature**, v. 491, n. 7422, p. 105-108, 2012.

GONÇALVES, L. S. Consequências do desaparecimento (CCD) das Abelhas no Agronegócio Apícola Internacional e em especial no Brasil. **Anais** do X sobre abelhas, Ribeirão Preto – SP. 2012.

HAGEN, M. et al. Biodiversity, species interactions and ecological networks in a fragmented world. **Advances in Ecological Research**, v. 46, p. 89-120, 2012.

HENRY, M. et al. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 348-350, 2012.

HEYLEN, K. et al. The effects of four crop protection products o the morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of the European honeybee, *Apis mellifera*. **Apidologie**, v.42, n.1, p.103-116, 2011.

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatório de Comercialização de Agrotóxicos**. 2016. Disponível em http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos->. Acesso em 15 fev. 2016.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades**. 2015. Disponível em:< http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=240100&search=||infogr%E1ficos:-informa%E7%F5es-completas. Acesso em: 20 jan. 2016.

IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry. **Pesticide Properties Database**. Disponível em:<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/. Acesso em: 17 nov. 2015.

IWASA, T. et al. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, v. 23, n. 5, p. 371-378, 2004.

KHAN, A. S.; MATOS, V. D. de; LIMA, P. V. P. S. Desempenho da apicultura no estado do Ceará: competitividade, nível tecnológico e fatores condicionantes. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 47, n. 3, p. 651-676, 2009.

KLATT, B. K. et al. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1775, p. 20132440, 2014.

KLEIN, A.M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

LAURINO, D. et al. Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. **Bulletin of Insectology**, v. 64, n. 1, p. 107-113, 2011.

LAUTENBACH, S. et al. Spatial and temporal trends of global pollination benefit. **Plos One**, v. 7, n. 4, p. e35954, 2012.

LENGLER, L.; SILVA, T. N. Sustentabilidade, empreendedorismo e cooperação em associações de apicultores da região central do rio grande do sul. **Revista da Micro e Pequena Empresa**, v. 2, n. 3, p. 40-57, 2011.

LIRIO, F. C. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de méis florais irradiados.** 2010. 154 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MALASPINA, et al. Defesa de apiários e meliponários contra agrotóxicos. In: 18º Congresso de Apicultura e 4º Congresso de Meliponicultura, Cuiabá. **Anais...** 2010. p. CD-ROM.

MASSON, L.M. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na Região Sul do Brasil. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1660-1664, 2008.

MEDRZYCKI, P. et al. Standard methods for toxicology research in Apis mellifera. **Journal of Apicultural Research**, v. 52, n. 4, p. 1-60, 2013.

MESSAGE et al. Colapso de colônias de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, p. 55-55, 2011.

MORAGAS, W. M., SCHNEIDER, M., O. Biocidas: suas propriedades e seu histórico no Brasil. **Caminhos da Geografia**, p. 26-40, 2003.

MORSE, R A.; CALDERONE, N. W. The value of honey bees as pollinators of US crops in 2000. **Bee culture**, v. 128, n. 3, p. 1-15, 2000.

NASCIMENTO, F. J.; GURGEL, M.; MARACAJÁ, P. B. Avaliação da agressividade de abelhas africanizadas (Apis mellifera) associada à hora do dia e a temperatura no município de Mossoró–RN.**Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, p. 12-22, 2005.

NATIONAL AGRICULTURAL STATISTICS SERVICE. **Honey**. 2008. Disponível em: < WWW. Nass. Usda. Gov. Acesso em: 10 nov. 2015.

NÖRNBERG, S.D. et al. Seletividade de formulações de glyphosate aplicado nos estádios imaturos de *Trichogramma pretiosum*. **Planta Daninha**, v. 26, p. 611-617, 2008.

OLIVEIRA, R. A. et al. Side effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenopptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v. 29, n. 10, p. 1122-1133, 2014.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals?.**Oikos**, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

ORTH, A. I. Declínio dos polinizadores no Brasil. In. Congresso brasileiro de apicultura, 13, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: UFSC/ FAASC/ EPAGRI,2000

PETTIS, J. S.; JOHNSON, J.; DIVELY, G. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen Nosema. **Naturwissenschaften**, v. 99, n. 2, p. 153-158, 2012.

POTTS, S. G. et al. Declines of managed honeybees and beekeepers in Europe. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v. 49, p. 15–22, 2010.

PROKOPY, R.J.; KOGAN, M. Integrated pest management. In: RESH, V.H.; CARDÉ, R.T. (Ed.). **Encyclopedia of Insects.** New York, Academic Press, 2003, p. 4-9.

PUGLIS, H. J.; BOONE, M. D. Effects of technical-grade active ingredient vs. commercial formulation of seven pesticides in the presence or absence of UV radiation on survival of green frog tadpoles. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 60, n. 1, p. 145-155, 2011.

RHODES, J; SCOTT, M. Pesticides: a guide to their effects on honey bees. **NSW Department of Primary Industries: Primefacts**, v. 149, n. 4, 2006.

RISSATO, S. R. et al. Método multirresíduo para monitoramento de contaminação ambiental de pesticidas na região de Bauru (SP) usando mel como bio-indicador. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 950, 2006.

ROSSI, A. C. et al. Effects of sublethal doses of imidacloprid in malpighian tubules of africanized *Apis mellifer*a (Hymenoptera, Apidae).**Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 5, p. 552-558, 2013.

SANDROCK, C. et al. Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. **PLoS One.** v. 9, n. 8, p. 742-748, 2014.

SANTOS, C. S.; RIBEIRO, A. S. Apicultura uma alternativa na busca do desenvolvimento sustentável. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n. 3, 2009.

SILVA, I. P. et al. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v.1, p. 1-13, 2015.

SILVA, P. N; HRNCIR, M. ; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. . A polinização por vibração. **Oecologia Australis**, v. 14, p. 140-151, 2010.

SOARES, H. M. et al. Toxicity of Imidacloprid to the Stingless Bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera: Apidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 94, n. 6, p. 675-680, 2015.

SORDI, V. F. et al. O principais benefícios da atividade apícola e os entraves para seu desenvolvimento no estado de mato grosso do sul.**Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 7, n. 3, p. 571, 2014.

SOUZA NETO, P. M. **Relacionamentos cooperativos como fator de sustentabilidade na economia solidária no RN: um estudo de caso múltiplo no setor apícola.** 2009. 175 f. Dissertação (Mestrado em Estratégia; Qualidade; Gestão Ambiental; Gestão da Produção e Operações) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SOUZA, J. R. de. **Toxicidade da clotianidina para a abelha africanizada *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae).** 2015.139f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Curso de Pós-graduação em Entomologia, Universidade Federal de Lavras.

TEIXEIRA, S. P.; MARINHO, C. R.; PAULINO, J. V. A Flor: aspectos morfofuncionais e evolutivos. IN: RECH, A. R., AGOSTINI, K., OLIVEIRA, P.E.A.M. & MACHADO, I.C.S.. (ORG.). **Biologia da Polinização**. 1ed.Brasilia: Editora do Ministério do Meio Ambiente, 2014, v. 1, p. 45-70.

THOMAZONI, D. et al. Selectivity of insecticides for adult workers of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 35, n. 2, p. 173-176, 2009.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J.E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review Pharmacology and Toxicology.**, v. 45, p. 247-268, 2005.

UNDERWOOD, R. M.; VANENGELSDORP, D. Colony collapse disorder: Have we seen this before? Bee Cult. V. 35, p. 13-18, 2007.

VAN DEN BOSCH, R. **The Pesticide Conspiracy**. New York: Doubleday & Co.Inc., 1978. 212 p.

VASCONCELOS, M.R.S. **Pólen Apícola do estado de Alagoas: composição físico-química, origem botânica e atividade antioxidante.** 2009. 102f. Dissertações (Mestrado em Nutrição) – Curso de Pós-graduação em Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

WAICHMAN, A. V. Uma proposta de avaliação integrada de risco do uso de agrotóxicos no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica, Manaus**, v. 38, p. 45-50, 2008.

WIESNER, P.; KAYSER, H. Characterization of nicotinic acetylcholine receptors from the insects *Aphis craccivora*, *Myzus persicae*, and *Locusta migratoria* by radioligand binding assays: relation to thiamethoxam action. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, Hoboken, v. 14, n. 4, p. 221-230, 2000.

WILLIAMS, G. R. et al. Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens. **Scientific Reports**, v. 5, 2015.

WILLIAMSON, E. G. et al. A comparative analysis of the acute toxicity of technical-grade pyrethroid insecticides and their commercial formulations. **Ecotoxicology and Environmental Sfety**, v. 18, n. 1, p. 27-34, 1989.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. Efeito da polinização por abelhas e outros insetos na produção de sementes de cebola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 12, p. 1399-1407, 2003.

WOLFF, L. F. B. Efeitos dos agrotóxicos sobre a apicultura e a polinização de soja, citros e macieira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13, Florianópolis, SC, **Anais...** 2000. CD-ROM.