



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HORTICULTURA**  
**TROPICAL**  
**CAMPUS DE POMBAL – PB**

**TOXICIDADE DE NEONICOTINOIDES SOBRE ABELHAS**  
*(Apis mellifera)*

**WHALAMYS LOURENÇO DE ARAÚJO**

**POMBAL – PB**

**2015**

**WHALAMYS LOURENÇO DE ARAÚJO**

**TOXICIDADE DE NEONICOTINOIDES SOBRE ABELHAS**  
(*Apis mellifera*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical para a obtenção de Mestre em Horticultura Tropical/ Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sekyguchi de Godoy

**POMBAL – PB**

**2015**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL  
CAMPUS POMBAL/CCTA/UFCG**

A663t Araújo, Whalamys Lourenço de.  
Toxicidade de neonicotinóides sobre abelhas (*Apis mellifera*) /  
Whalamys Lourenço de Araújo. – Pombal, 2015.  
49 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) –  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e  
Tecnologia Agroalimentar, 2015.

"Orientação: Prof. Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy".  
Referências.

1. Seletividade de Inseticidas. 2. Contaminação. 3. Insetos  
Benéficos. 4. Polinizadores. I. Godoy, Maurício Sekiguchi.  
II. Título.

CDU 632.95.024 (043)

WHALAMYS LOURENÇO DE ARAÚJO

**TOXICIDADE DE NEONICOTINÓIDES SOBRE ABELHAS** (*Apis mellifera*)

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. DSc. Maurício Sekiguchi de Godoy

DCV / UFERSA – RN

Orientador

---

Prof. DSc. Adrian José Molina-Rugama

DCV – UFERSA – RN

Examinador

---

Prof. DSc. Ivan Remígio Silva

IFCE

Examinador

*Aos meus pais, Maria do Rosário e João Batista, ao meu filho Murylo Victor, por estarem ao meu lado em todos os momentos e serem minha fonte inesgotável de persistência.*

*DEDICO*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida e fé, que me tem me guiado e fortalecido todos os dias de minha trajetória.

Aos meus pais, cuja lista de agradecimentos é enorme. Eu amo vocês! Vocês são a base de todos os meus projetos de vida. Sem vocês nada do que sou teria sentido.

À minha família, pelo apoio emocional e moral, pelas orações, por tanta coisa boa.

Ao meu orientador, Professor Maurício Sekiguchi de Godoy, pela confiança, parceria, amizade, colaboração, compreensão e orientação técnica.

Aos membros da banca examinadora, Professor Adrian José Molina-Rugama e o Professor Ivan Remígio Silva pela disponibilidade e contribuições filosóficas.

Ao meu amigo e professor Patrício Borges Maracajá, que tem sido um “pai”, por toda contribuição necessária para a realização deste trabalho, pela amizade, pela confiança e pela pessoa maravilhosa que tem sido durante toda minha vida acadêmica.

A Professora Rosilene Agra, por toda contribuição direta ou indiretamente para a finalização deste trabalho.

A equipe que me ajudou na condução dos experimentos, Luciano Barros, Fernanda Silva, Josylenne Oliveira, Ana Paula Wanderley, Zezinho e Francisco Airton, pela colaboração, convivência, entusiasmo e disponibilidade. Sem vocês não teria sido possível obter os resultados deste trabalho.

Ao técnico do Laboratório de Abelhas do CCTA/UFCG, Daniel, por toda ajuda que prestou junto à equipe.

Ao amigo Alberto Salgado, por sempre estar disponível a ajudar nos momentos de necessidade junto a EMATER – Pombal – PB.

Ao amigo Wesley Adson, pela contribuição estatística presente no trabalho.

Ao meu primo professor Carlos Augusto Júnior, pela contribuição na redação dos textos.

Aos meus amigos Valdeniza Soares, Luciano Sousa, Iago Felipe, Rhaniel Wanderley, Jessica Allana, Luan Wanderley, pela amizade, apoio emocional e moral, convivência, entre outros.

Aos colegas, funcionários e professores do CCTA/UFCG, por terem contribuído com a minha formação acadêmica.

À CAPES, pela concessão de bolsa.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
2.1 Cultura do melão ( <i>Cucumis melo</i> L.) .....	13
2.2 Biologia das abelhas ( <i>Apis mellifera</i> L.) .....	14
2.3 Polinização por <i>Apis mellifera</i> .....	16
2.4 Toxicologia dos inseticidas neonicotinoides .....	18
2.5 Efeito de agrotóxicos sobre a biodiversidade de insetos benéficos .....	20
2.6 Efeito de agrotóxicos sobre abelhas .....	21
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>24</b>
3.1 Local dos experimentos .....	24
3.2 Procedências dos insetos .....	24
3.3 Inseticidas neonicotinoides analisados .....	25
3.3.1 <i>A. mellifera</i> contaminadas por pulverização direta de neonicotinoides .....	25
3.3.2 <i>A. mellifera</i> contaminadas com dietas contendo neonicotinoides .....	26
3.4 Análise estatística dos dados biológicos .....	26
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>28</b>
4.1 Toxicidade de neonicotinoides após pulverizações sobre <i>A. mellifera</i> .....	28
4.2 Efeitos de pasta cãndi contaminada com neonicotinoides sobre <i>A. mellifera</i> .....	33
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>37</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>39</b>

## RESUMO

ARAÚJO, Whalamys Lourenço. **Toxicidade de neonicotinóides sobre abelhas** (*Apis mellifera*). 2015. 49f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Pombal – PB, 2015<sup>1</sup>.

O cultivo do meloeiro (*Cucumis melo* L.) é de grande importância para a economia brasileira. Seu cultivo tem demonstrado significativa expansão nas duas últimas décadas, especialmente nas regiões Semiáridas do Nordeste. Apesar dos fatores favoráveis à produtividade do meloeiro, vale salientar fatores limitantes, destacando-se os danos ocasionados por pragas que destroem o cultivo e, conseqüentemente, diminuindo a colheita, obrigando que medidas de controle sejam adotadas. Entre estas, estão aplicações de inseticidas químicos, entre eles os neonicotinóides. Estudos têm demonstrado os danos colaterais destes inseticidas a insetos benéficos como abelhas, que por sua vez são de fundamental importância para a polinização de 90% das angiospermas, principalmente para o melão. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de neonicotinóides empregados para o controle de pragas na cultura do meloeiro à abelhas *A. mellifera* Linnaeus. Os bioensaios foram realizados em laboratório, sendo tomadas medidas repetidas no tempo de mortalidade para os produtos comerciais Actara 250 WG (tiametoxam), Evidence 700 WG (imidacloprid), Mospilan (acetamipride) e Orfeu (acetamipride). A exposição das abelhas aos compostos foi realizada por meio de pulverização e ingestão de alimento contaminado com as maiores e menores doses recomendadas pelos fabricantes. Independente do modo de exposição, tiametoxam, imidaclopride e acetamipride (duas formulações) foram tóxicos, diminuindo o tempo de vida útil das abelhas em até 1, 2, 11 e 11 dias, respectivamente, quando comparados com a testemunha, que por sua vez sobreviveram 18 dias, em média. O inseticida tiametoxam foi extremamente tóxico quando pulverizado sobre as abelhas, bem como quando contaminante da dieta ingerida. O imidaclopride também apresentou toxicidade em ambos os experimentos, sendo depois do tiametoxam o mais tóxicos. O inseticida acetamipride apresentou toxicidade, porém não tão alta, quanto às observadas com o tiametoxam e o imidaclopride.

**PALAVRAS-CHAVE:** Seletividade de inseticidas. Contaminação. Insetos benéficos. Polinizadores.

<sup>1</sup>Orientador: Prof. DSc. Maurício Sekiguchi de Godoy

## ABSTRACT

ARAÚJO, Whalamys Lourenço. **TOXICITY NEONICOTINOIDS ON HONEYBEES** (*Apis mellifera*). 2015. 49f. Dissertation (Master Degree in Tropical Horticulture) – Federal University of Campina Grande (UFCG), Pombal – PB, 2015<sup>1</sup>.

The cultivation of melon (*Cucumis melo* L.) is of great importance for the Brazilian economy, especially in semiarid regions of the Northeast. Despite the favorable factors to the yield of melon other limiting factors have been highlighted as the damage caused by pests, which undertake to harvest, requiring that control measures are adopted. Among these are applications of chemical insecticides, including the neonicotinoids. Studies have shown the collateral damage of these insecticides to beneficial insects like bees, important pollinators of 90% of angiosperms, mainly to melon. The objective of this study was to evaluate the toxicity of neonicotinoids used for pest control in the melon crop to Linnaeus honeybees. Bioassays were performed in the laboratory, being taken repeated measures in time to mortality commercial products Actara 250 WG (thiamethoxam), Evidence 700 WG (imidacloprid), Mospilan (acetamiprid) and Orpheus (acetamiprid) (two formulations). The exposure of bees to the compounds was performed by spraying and ingestion of food contaminated with higher and lower doses recommended by the manufacturers. Regardless of the exposure mode, all insecticides were toxic, reducing the useful life of bees within 1, 2 and 11 days, respectively, compared with the control (distilled water + pure candy), which survived 18 days, average . The insecticide thiamethoxam in both experiments and doses, was extremely toxic; as well as Imidacloprid, the second most toxic. The Acetamiprid insecticide, in both formulations showed toxicity, but not so high as those observed with other insecticides in the study.

**KEYWORDS:** Selectivity of insecticides; Contamination; Benevolent insects; Pollinators.

<sup>1</sup>Orientador: Prof. DSc. Maurício Sekiguchi de Godoy

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo do meloeiro (*Cucumis melo* L.) é de grande importância para a economia brasileira, uma vez que liderou o *ranking* de maior volume de exportação de frutas frescas para o mercado internacional nos últimos anos. Em 2014 foram exportados 196,850 mil toneladas do produto (REETZ et al., 2015). As regiões semiáridas do nordeste têm sido as principais responsáveis por esta produção, isso devido as condições edafoclimáticas favoráveis (LOPES et al., 2012), onde as regiões pólo dos Estados de Pernambuco (PE), Ceará (CE) e Rio Grande do Norte (RN) se destacam, refletindo positivamente na economia local para grandes e pequenos produtores (REETZ et al., 2015).

No entanto, apesar dos fatores favoráveis à produtividade do meloeiro, vale salientar algumas limitações como fatores climáticos, que também favorecem os ataques de pragas e doenças, destacando principalmente os danos ocasionados por insetos pragas (FERNANDES, 2015), que destroem o cultivo, e conseqüentemente, diminuem a colheita, obrigando que medidas de controle sejam adotadas.

No cultivo do meloeiro, o controle de pragas é geralmente realizado por meio do uso de produtos químicos (LIMA et al., 2012), principalmente em virtude de resultados imediatos e positivos do ponto de vista da supressão desses organismos. Porém, existem casos em que este método é aplicado inadequadamente, e efeitos adversos podem ocorrer, como a contaminação de alimentos, poluição de rios, intoxicação e morte de agricultores, bem como a extinção de espécies de animais (FERRARI, 1986).

Além disso, pode provocar o aumento das pragas ao invés de combatê-las, devido a seleção de populações resistentes, ocasionando a dependência das lavouras aos agrotóxicos, agredindo ainda mais a fauna e dizimando, em muitos casos, organismos benéficos (CHAGAS, 2015).

Dentre esses artrópodes benéficos, insetos polinizadores, com destaque para as abelhas e vespas, são os que mais sofrem alterações (BARBOSA, 2015), seja comportamental e ou fisiológica. Segundo Barnett et al. (2007), analisando dados de 10 anos do Sistema de Investigação de Incidentes da Vida Selvagem (WIIS), aplicações de inseticidas organofosforados, carbamatos e piretróides reduziram o número populacional de abelhas em agroecossistemas no Reino Unido, *Apis mellifera* L. e os zangões de *Bombus terrestris* L. foram as espécies mais prejudicadas com intoxicações por agrotóxicos.

Com base nestas informações, surgiu a hipótese de que o uso indiscriminado de agrotóxicos seria uma das causas da ausência das abelhas nos campos agrícolas, fato este

alegado por vários produtores de melão na região de Mossoró – RN. Logo, como consequência, interferindo no processo de polinização, uma vez que, de acordo com Kevan (1999), os polinizadores como abelhas e vespas são cruciais para quase todos os ecossistemas terrestres, incluindo os agroecossistemas, e os inseticidas não seletivos atingem insetos não alvos como esses organismos benéficos.

Segundo Davy (2007), tratando-se de inseticidas, dependendo do produto, este pode ser mais tóxico aos polinizadores, em especial as abelhas e também aos inimigos naturais, do que aos próprios insetos-praga, para os quais os inseticidas têm como alvo principal. Dentre os agrotóxicos mais utilizados para o controle de insetos-praga do meloeiro estão os do grupo neonicotinoides (tiametoxam, acetamipride, imidaclopride, clotianidina dentre outros.), que atuam no sistema nervoso central dos insetos como agonistas da acetilcolina nos receptores nicotínicos pós-sinápticos (NAUEN et al., 2001), causando a morte dos insetos por impulsos nervosos contínuos.

Neste sentido, vários trabalhos vêm sendo publicados mostrando a importância do efeito deletério de diversos inseticidas, principalmente os neonicotinoides sobre insetos polinizadores, como, por exemplo, para as abelhas (KREMEN et al., 2002; THOMPSON e MAUS, 2007; WHITEHORN et al., 2012; PALMER et al., 2013), que, devido ao desmatamento de seu hábitat natural, têm elevado suas atividades de forrageamento em áreas agrícolas.

Porém, este aumento na elevação de forrageamento está ocasionando uma redução no número populacional destes insetos, devido ao contato com os inseticidas aplicados para o controle de pragas nas áreas de cultivo (MALASPINA e SILVA-ZACARIN, 2006). Thompson (2003) relatou que produtos fitossanitários, quando aplicados sobre adultos de abelhas, podem provocar a morte, repelência, interferência na capacidade de forrageamento e no desenvolvimento da colônia, o que pode conduzir estes insetos a extinção, causando um impacto ambiental, em virtude da importância destes para os ecossistemas naturais.

Além de implicar no processo produtivo dos agrossistemas, muitos apicultores são também prejudicados, uma vez que estes insetos são responsáveis pela produção de mel, cera, geleia real e própolis (WIESE, 2005). E em virtude da diminuição, quase “extinção” de populações das abelhas nos apiários, há uma queda na produção destes produtos que, muitas vezes, apresentam ainda baixa qualidade organoléptica devido à contaminação com resíduos de agrotóxicos (STONER et al., 1985).

Tendo em vista a importância das abelhas como agentes polinizadores de plantas e para a cadeia produtiva de diversos produtos, salienta-se a necessidade da conservação das

mesmas, principalmente *A. mellifera* L. nos sistemas de cultivo, de modo que estas não sejam intoxicadas por agrotóxicos.

Com base no supracitado, fato dos agrotóxicos poderem se apresentar nocivos a insetos benéficos, e no Brasil, a pesquisa a respeito do impacto destes sobre abelhas *A. mellifera* L. ser escassos, torna-se necessário estudar o impacto dos agrotóxicos sobre estes organismos. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito tóxico de inseticidas neonicotinoides empregados em cultura de meloeiro sobre operárias de abelhas *A. mellifera* L. sob duas formas de contaminação, por meio de técnicas de pulverização direta e por ingestão de alimento, ambas contaminadas com as maiores e menores dosagens dos inseticidas indicadas pelos fabricantes.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cultura do melão (*Cucumis melo* L.)

O melão (*Cucumis melo* L.) tem origem africana e foi disseminado pelo Oriente Médio, Ásia Central e posteriormente no ocidente. É uma planta anual, de comportamento rasteiro que pertence à família das Cucurbitáceas, com um grande número de espécies cultivadas, e riqueza de variedades tradicionais, como as abóboras (*Cucurbita* spp.), melancia (*Citrulus lanatus*), entre outras (FILGUEIRA, 2009). É uma hortaliça consumida *in natura* ou na forma de suco, muito apreciada e de grande aceitação no mundo. Os frutos têm uma qualidade nutricional favorável para o seu consumo, pois é considerado pouco calórico e boa fonte de sódio, potássio, vitaminas A e C e beta-caroteno (LESTER, 1997).

No Brasil, entre as hortaliças tropicais, o melão tem demonstrado maior expansão nas duas últimas décadas, especialmente nas regiões Semiáridas do Nordeste (PORTO FILHO, 2006), sendo considerado o maior produtor da América do Sul (FAO, 2011).

Os principais Estados Brasileiros exportadores de melão são o Ceará, responsável por 59,10% da produção, o Rio Grande do Norte, com 38,21% e a Bahia, que aumentou sua participação nas exportações da fruta, respondendo por 2,09% (CORDÃO TERCEIRO NETO et al., 2014), caracterizando a importância para o agronegócio; uma vez que seu cultivo absorve grande quantidade de mão-de-obra, gerando empregos diretos e indiretos (GUIMARÃES, 2005).

As principais variedades de melões produzidas comercialmente se enquadram em dois grupos: *Cucumis melo inodorus* Naud e *Cucumis melo cantaloupensis* Naud, que correspondem, respectivamente, aos melões inodoros e aromáticos (MENEZES et al., 2000).

Dentre as cultivares mais exploradas na região Nordeste, destaca-se o melão Pele de Sapo, representando 19% da área cultivada, o qual se caracteriza por apresentar excelente potencial produtivo e alta aceitação no mercado externo (CORDÃO TERCEIRO NETO et al., 2014).

As condições climáticas como temperatura, luminosidade, umidade relativa e a pequena ocorrência de chuvas nas regiões semiáridas, favorecem a baixa incidência de doenças, permitindo uma melhor qualidade dos frutos, tornando-os, assim, os Polos Assu-Mossoró (RN) e Baixo Jaguaribe (CE) os maiores produtores do Brasil (LOPES et al., 2012).

Considerando a importância econômica dessa hortaliça para o país, muitas tecnologias de produção vêm sendo adotadas, no intuito de maximizar a produção e aumentar

a qualidade dos produtos exportados, principalmente na qualidade fitossanitária. As exigências do mercado internacional para o meloeiro baseiam-se em critérios nutricionais, higiênicos, tecnológicos e sensoriais, que influenciam na aceitação pelo consumidor; além da resistência ao manuseio, transporte e armazenamento que determinam o preço do produto (MIRANDA et al., 2005).

A utilização de novas tecnologias na agricultura, principalmente a partir da segunda metade do século XX, introduziu um “pacote” tecnológico avançado, permitindo um aumento na produção, porém alterando as relações sociais no campo (SCHONS e MIORIN, 2007), desde a utilização de máquinas ao tratamento de sementes com inseticidas, fungicidas etc. É importante salientar que este procedimento ocorreu, muitas vezes, de forma inadequada à realidade produtora de frutas de melão, com consequências altamente negativas sobre o ambiente natural (ROCHA et al., 2009), uma vez que interfere nas relações ecológicas do sistema.

Dentre as limitações encontradas no cultivo do meloeiro, destacam-se os danos causados por pragas, que podem causar injúrias à planta em quase todas suas as fases fenológicas. O controle de pragas do meloeiro é geralmente feito por meio do controle químico (LIMA et al., 2012), com resultados imediatos, muitas vezes promissores. Porém, em muitos casos, esse método é aplicado inadequadamente, onde não há uma preocupação com os intervalos de aplicações, não respeitando as normas de biosegurança. Sendo assim, efeitos adversos podem ocorrer.

## 2.2 Biologia das abelhas (*Apis mellifera* L.) africanizadas

As abelhas são insetos sociais que vivem em grandes comunidades, e sempre buscam a preservação da sua espécie. Na classificação zoológica, *Apis mellifera* L. pertence ao reino Animalia, ao filo Arthropoda, a classe Insecta, a subclasse Pterygota, a ordem Hymenoptera, a Subordem Apócrita, a Superfamília Apoidea, a família Apidae. O gênero *Apis* é composto de quatro espécies: *Apis mellifera*, *Apis dorsata*, *Apis florea*, *Apis cerana* (ITAGIBA, 1997); e dentre estas se encontram diversas subespécies, a exemplo a *Apis mellifera ligustica* Spinola, 1806; *Apis mellifera mellifera* Linnaeus, 1758; *Apis mellifera carniça* Pollmann, 1879 e *Apis mellifera caucásica* Gorbachev, 1916, e raças europeias que já eram ocorrentes na América do Sul antes da introdução de uma outra subespécie *Apis mellifera scutella* Lepeletier, 1836, de origem africana (GONÇALVEZ, 1994).

Todas as abelhas da espécie *A. mellifera* de diferentes regiões, quando cruzam entre si, podem produzir híbridos plenamente férteis, pois pertencem a mesma espécie

(ITAGIBA, 1997). Logo, o cruzamento entre raças europeias com raças africanas deu origem a espécies híbridas, vulgarmente conhecidas como “abelhas africanizadas”, espécie mais utilizada em todo o mundo na apicultura.

As abelhas sociais possuem níveis de organização na colmeia, de acordo com a função, encontram-se categorias diferentes, aos quais recebem o nome de castas. As abelhas apresentam três castas de indivíduos: rainha, operárias e zangões, organizados em colônias, formando os enxames, sendo, em média, 10.000 a 80.000 abelhas operárias; de 100 a 400 zangões e 1 rainha (WINSTON, 2003). O alimento tem forte influência sobre a diferenciação das castas, e o controle de sua quantidade ou qualidade é um dos mecanismos centrais na vida social, tendo a atividade de forrageio nas flores e o processamento do alimento nas colônias influência direto na vida social da colônia (KLEINERT et al., 2015).

A sobrevivência de toda a colmeia depende da abelha rainha e das abelhas operárias, todas do sexo feminino, sendo os zangões, que são os machos, com a função de reproduzir. Os ovos fecundados depositados pela rainha darão origem às fêmeas e os não fecundados aos machos, esse último chamado de partenogênese arrenótoca (COSTA, 2005). A rainha por sua vez, nasce de um ovo fecundado, desenvolvido em uma célula especial chamada de realeira e é superalimentada com geleia real (ROCHA, 2008).

Cada casta possui tempo de ciclo de vida diferente, mas todas passam pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto para completar seu ciclo, sendo esse período definido por ciclo evolutivo. As abelhas operárias podem apresentar um tempo total de desenvolvimento de 21 dias, distribuídos em 3 dias na fase de ovo, 6 dias na fase larval e 12 dias para a fase pupal, podendo atingir longevidade de 38 a 42 dias; o zangão de 24 dias, distribuídos em 3 dias na fase de ovo, 6,5 dias para fase larval e 14,5 dias na fase pupal, e longevidade de 80 dias; já a abelha rainha 16 dias, distribuídos em 3 dias na fase de ovo, 5,5 dias para fase larval e 7,5 dias na fase pupal, podendo atingir um tempo de vida de 5 anos (ROCHA, 2008). Morfologicamente, a rainha é o maior indivíduo, seguida do zangão e por último a operária (GALLO et al., 2002).

A operária nasce do ovo que é fecundado e após sua eclosão é alimentada nos três primeiros dias com geleia real (diferenciada) e, posteriormente, com a mistura de mel com pólen, até o início do período de pupa, momento em que não se alimenta e sofre metamorfose, tornando-se adulta (ROCHA, 2008). Comportamento característico de uma espécie holometábolo, ou seja, de metamorfose completa, onde o inseto imaturo é completamente diferente do adulto (GALLO et al., 2002).

São as operárias adultas que alimentam as larvas, reformando e construindo os favos, produzem cera por meio de uma glândula localizada na parte inferior do abdômen; além de serem as “campeiras” até o final de suas vidas (ROCHA, 2008), pois são as que buscam alimentos nas flores: néctar, com o qual fazem o mel, que é a fonte de energia, e o pólen, que é a fonte de proteína para a colmeia.

Além disso, coletam resinas de plantas, que serão transformadas em própolis, uma substância utilizada para calafetar (proteção contra intempéries) e para manter higienizado o ambiente interno da colmeia (COSTA, 2005).

As operárias antecipam sua morte após ferroarem, isso ocorre devido à existência de cerdas no ferrão (ITAGIBA, 1997), que se prendem a vítima, deixando o saco de veneno e parte do intestino, liberando assim um cheiro característico, feromônio, marcando o local que foi ferroadado, para que as outras operárias ataquem o mesmo local (ROCHA, 2008). Todas essas características tornam a abelha operária de fundamental importância para a colmeia.

A rainha é a única fêmea que tem o órgão feminino reprodutor perfeitamente desenvolvido, e é alimentada por geleia real durante toda a vida, desde o período larval. Cada enxame possui apenas uma rainha. Sua principal função na colmeia é pôr ovos e manter o enxame unido pelo cheiro característico (feromônio) (ROCHA, 2008). Dos ovos, aproximadamente 3.000 serão geradas as operárias e zangões, porém, essa postura depende do alimento que entra na colmeia (néctar e pólen), podendo diminuir ou aumentar conforme a quantidade e qualidade de alimento obtido. Geralmente, a rainha apresenta alta fecundidade até o terceiro ano de vida, com cópulas realizadas com até 26 zangões, sendo interrompida após a primeira oviposição (COSTA, 2005).

O zangão é o macho da colmeia, possui aspecto característico, como corpo coberto por pelos. Não possui um órgão específico para um trabalho entre as castas, sendo sua única função, acasalar com a rainha, desta forma, na colmeia, apenas se alimentam. Possuem um superolfato, localizando uma rainha virgem num raio de até 10 km (ROCHA, 2008). Durante a cópula, o seu órgão sexual sai e é evertido, assim ele não consegue mais recolhê-lo, causando sua morte (COSTA, 2005).

### 2.3 Polinização por *Apis mellifera*

A polinização é um processo fundamental para a reprodução sexual das plantas superiores, principalmente para as plantas cultivadas. É neste processo que ocorre a transferência do pólen, presente nos estames, para o estigma da flor da planta de mesma espécie, ocorrendo à fecundação dos óvulos e consequente a formação de sementes (PROCTOR et al., 1996).

Quando ocorre adequadamente, o processo de polinização possibilita a garantia de um aumento na qualidade das sementes e dos frutos produzidos (RICHARDS, 2001), enquanto que uma polinização deficiente pode causar deformações, baixo “pegamento” e produção de frutos, uma vez que o “pegamento” de frutos e a produtividade estão relacionados diretamente com a disponibilidade e da ação do pólen, e conseqüentemente, da presença de insetos polinizadores na área de cultivo (NASCIMENTO et al., 2012). Além disso, frutos mal formados por deficiência de polinização perdem o valor ou são descartados para comercialização (FREITAS, 1998).

Os principais agentes polinizadores são o vento (anemofilia) e os insetos (entomofilia). O homem, outros animais (zoofilia) e a água (hidrofilia) também podem agir na polinização (MARCOS FILHO, 2005). Segundo Freitas (2015), estima-se que aproximadamente 73% das espécies vegetais cultivadas no mundo sejam polinizadas por alguma espécie de abelha, sendo os agentes polinizadores mais eficientes. Para Shipp et al. (1994) as abelhas são consideradas os polinizadores mais importantes das culturas agrícolas ao redor do mundo, e os mais efetivos, correspondendo a 90% do sucesso reprodutivo das plantas com flores.

McGregor (1976) agrupou 166 culturas que são beneficiadas e dependentes da polinização por abelhas (melitófila), e algumas espécies, sem a contribuição entomológica na polinização, poderiam correr o risco até de se extinguirem; bem como a vulnerabilidade da produção de alimento ao declínio de polinizadores no mundo (GALLAI et al., 2009). De acordo McGregor (1976), mais de um terço de nossa alimentação depende direta ou indiretamente da polinização feita por abelhas, sendo *Apis mellifera* L. a espécie mais usada para a polinização de cultivos comerciais.

Como por exemplo, em maçã (JACKSON, 2003; PASA et al., 2012), café (MALERBO-SOUZA et al., 2003; 2012), tomate (SPANGLER e MOFFETT, 1977), laranja (SANFORD, 2003; GAMITO et al., 2006), cebola (WITTER e BLOCHTEIN, 2003; OLIVEIRA, 2005), pimenta (DAG e KAMMER, 2001) e melão (LEMASSON, 1987; DAG e EISIKOWITCH, 1995; KATO, 1997; GRANJEIRO et al., 2002; DE JONG et al., 2006; SOUSA et al., 2014).

A maioria das variedades e híbridos de meloeiro são andromonóicos, apresentam grãos de pólen viscosos e relativamente pesados, dificultando a ação dos agentes polinizadores abióticos no transporte das anteras para o estigma. Tais características favorecem o processo de alogamia no meloeiro, tornando importante a ação de polinizadores

bióticos (abelhas) para a fecundação das flores e formação adequada dos frutos (SOUSA et al., 2014).

Dantas et al. (2013) associaram o menor número de frutos de meloeiro por planta à diminuição do trabalho das abelhas no processo de polinização, em virtude do aumento da densidade de plantio. Enquanto que, após a introdução de colmeias de abelhas no campo de produção, Ribeiro (2015) constatou um aumento de até 3 toneladas na produtividade de melão, o que caracteriza de fato a importância da contribuição das abelhas à polinização, e consequentemente a produtividade desta cultura.

#### 2.4 Toxicologia dos inseticidas neonicotinoides

Os produtos fitossanitários (agrotóxicos, agroquímicos ou pesticidas) são substâncias químicas que podem ocasionar alterações fisiológicas, bioquímicas ou comportamentais sobre organismos vivos; e a importância de seu uso de maneira equilibrada pelas informações dos efeitos letais e subletais sobre os organismos diversos no ambiente, são fundamentais. Atuam sobre os organismos vivos por meio do bloqueio de algum processo fisiológico ou bioquímico, tendo como alvo principal, na maioria dos casos, o sistema nervoso (GALLO et al., 2002), como por exemplo os inseticidas do grupo dos neurotóxicos, no qual se encontram os neonicotinoides.

Os neonicotinoides originaram-se a partir da molécula de nicotina, extraídas das plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*). O primeiro composto dessa categoria de inseticida a ser comercializado foi o ingrediente ativo imidaclopride, introduzido na Europa e no Japão em 1990 pela Bayer CropScience®, que juntamente com o nitenpyram e o acetamipride representam a classe das cloronicotinilas, também conhecidos como neonicotinoides de primeira geração (NAUEN et al., 2001); e posteriormente outras gerações de neonicotinoides foram produzidas, onde se encontram o tiametoxam, clotianidina, entre outros.

Esses inseticidas atuam no sistema nervoso central dos insetos como agonistas da acetilcolina nos receptores nicotínicos pós-sinápticos (NAUEN et al., 2001). Ao contrário da acetilcolina, que é hidrolisada pela enzima acetilcolinesterase nos receptores nicotínicos, a molécula dos neonicotinoides não são degradadas imediatamente, assim os impulsos nervosos são transmitidos continuamente, levando à hiperexcitação do sistema nervoso (GALLO et al., 2002), podendo causar um colapso nesse sistema e consequentemente a morte do inseto.

Os receptores nicotínicos são canais iônicos ativados por acetilcolina e nos insetos sua expressão acontece majoritariamente no sistema nervoso central. Estes receptores são responsáveis pela mediação da neurotransmissão colinérgica excitatória e, por conta disto, se tornaram alvos principais da ação de importantes classes de inseticidas, tais como os

neonicotinoides (OLIVEIRA, 2014). Através da sua ação neurotóxica, os neonicotinoides atuam na neurofisiologia dos insetos, incluindo aqueles não alvos, como por exemplo, os insetos benéficos, tais como as abelhas (DESNEUX et al., 2007).

O imidaclopride é atualmente um dos compostos mais utilizado mundialmente. É um inseticida sistêmico, usado nas plantações de arroz, algodão, batata, pomares, vegetais de um modo geral, para o controle de insetos pragas, tais como moscas brancas e térmitas, com elevada taxa de sucesso (WARE, 2000).

Outros compostos pertencentes a esta classe são o acetamipride, tiametoxam, nitempiram, clotianidina, dinotefurano e o tiaclopride. O acetamipride, tiametoxam e o tiaclopride foram introduzidos no mercado apenas em 2002. O tiametoxam foi o primeiro neonicotinoide de segunda geração, e possui o grupo tianicotinil, característico desta classe (DURO, 2013).

Os neonicotinoides são aplicados via pulverização foliar, via água de irrigação no solo e no tratamento de sementes (THOMPSON, 2010; BLACQUIÈRE et al., 2012), em muitos cultivos agrícolas em que as abelhas são atraídas por suas flores (WHITEHORN et al., 2012; GODFRAY et al., 2014). Desta forma, estão expostas a possíveis intoxicações por estes inseticidas, principalmente por ingestão de néctar e pólen contaminados, considerando que os neonicotinoides são sistêmicos nas plantas, alcançando as partes apicais, locais em que as abelhas operárias forrageiam buscando recursos para serem transportados para as colônias (FAIRBROTHER et al., 2014).

Chauzat et al. (2006), relataram encontrar resíduos de inseticidas em produtos apícolas, e dentre estes químicos, o neonicotinoide imidaclopride foi determinado em 11 amostras de mel de 125 colmeias avaliadas. Sua concentração variou entre os valores 1,1 a 5,7 ug/ Kg, segundo o autor, essas concentrações poderiam causar distúrbios no desenvolvimento da colmeia, fato este ainda estudado.

Krupke et al. (2012), relataram encontrar resíduos de inseticidas em flores de plantas daninhas, nos seus grãos de pólen e néctar (0,93 ppb e 2,59 ppb, respectivamente), em abelhas mortas nos apiários, no solo dos campos cultivados e nos próximos aos cultivos de milho tratados com neonicotinoides, indicando deposição de moléculas químicas de clotianidina e tiametoxam sobre as flores, bem como absorção pelo sistema radicular, ou ambos, expondo às abelhas.

Sandrok et al. (2014), expondo colônias de *A. mellifera* a pólen contaminado com neonicotinoides durante 46 dias, constataram uma redução no crescimento da colônia em

longo prazo (12 meses), o que interferiu a substituição de rainhas, conseqüentemente a enxameação.

## 2.5 Efeitos de agrotóxicos sobre a biodiversidade de insetos benéficos

O uso indiscriminado de agrotóxicos constitui uma prática agressiva ao meio ambiente e a seus componentes biológicos, e muitas vezes seu principal objetivo não é alcançado efetivamente, que é o controle dos organismos causadores de danos econômicos, os insetos-pragas, por exemplo, resultando em danos imprevisíveis para os animais de grande porte, como também para os diminutos insetos, principalmente aqueles considerados benéficos (GALLO et al., 2002). Além disto, tem ocasionado à contaminação de alimentos, poluição de rios, intoxicação e morte de agricultores (RIPPER, 1956; FERRARI, 1985), bem como a extinção de espécies de diversos animais selvagens, como mamíferos, aves, peixes, anfíbios e répteis (GIBBONS, MORRISSEY e MINEAU, 2015).

Muitos estudos vêm discutindo o efeito deletério, a não seletividade de agrotóxicos para os organismos benéficos nos agroecossistemas. Wilkinson et al. (1975) já relatavam problemas com agrotóxicos na fauna de inimigos naturais de pragas, como predadores e parasitoides. Sonoda et al. (2011) estudaram os efeitos de agrotóxicos sobre a biodiversidade de insetos em pomares de pêssigo, e relataram que estes produtos afetam negativamente a biodiversidade de insetos benéficos, como formigas e besouros predadores.

Peres et al. (2013), avaliando a seletividade de inseticidas utilizados para o controle de pragas no cultivo de algodoeiro, verificaram que carbosulfam e acetamipride não apresentam seletividade aos inimigos naturais, e ainda promoveram aumento na população dos insetos pragas não alvo. Fonseca et al. (2008) estudando seletividade de inseticidas no controle de pragas no cultivo de algodoeiro, constataram que alguns inseticidas neonicotinoides não apresentam seletividade para famílias de artrópodes benéficos, como Formicidae e Tachinidae, apenas para organismos da família Araneidae.

Godoy et al. (2013) relataram que o inseticida neonicotinoide tiametoxam foi altamente nocivo para *Chrysoperla externa* Hagen e *Ceraeochrysa cubana* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae), espécies de insetos predadores utilizadas no controle biológico em sistemas de cultivo que adotam o Manejo Integrado de Pragas (MIP). Porém, Torres (2013) submetendo a espécie de neuroptera *C. externa* a doses de clorpirifós, cloridato de cartap, piriproxifem, profenofós + lufenurum, fenpropratrina, triazofós + deltametrina e zetacipermetrina, não observaram ação negativa no desenvolvimento deste predador, o que indica que alguns agrotóxicos apresentam seletividade quando aplicados para o controle de

insetos pragas, não atingindo organismos benéficos, mantendo o equilíbrio da biodiversidade nos agroecossistemas.

Hill e Foster (2000) avaliando a toxicidade de inseticidas ao adulto de *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae), e seu hospedeiro *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), relataram que os inseticidas imidaclopride, permetrina, carbaryl e espinosade foram muito tóxicos ao parasitoide em testes residuais. Vieira et al. (2012) avaliaram a seletividade de diferentes inseticidas aos parasitoides *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae), *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae), relatando que beta-ciflutrina 9,375 +imidacloprido 75 g i.a. ha<sup>-1</sup> foi eficiente no controle de ninfas de mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Diptera: Aleyrodidae), mas não foi seletivo aos inimigos naturais avaliados, bem como os tratamentos contendo piretroides na sua composição (beta-ciflutrina 9,375 + imidacloprido 75 + espiromesifeno 60 g i.a. ha<sup>-1</sup>; beta-ciflutrina 9,375 + imidacloprido 75 g i.a. ha<sup>-1</sup> e lambda-cialotrina 26,5 + tiametoxam 35,25 g i.a. ha<sup>-1</sup>) foram os mais nocivos aos parasitoides avaliados, recomendando que evitem o uso destes inseticidas sempre que possível, por reduzirem consideravelmente alguns inimigos naturais presentes no agrossistema.

De acordo com Hooper et al. (2005), a redução da biodiversidade, supostamente, prejudicará diversas interações nos ecossistemas; pois além dos organismos predadores e parasitoides, os polinizadores, em especial as abelhas, são também atingidos direta e indiretamente, devido ao contato destes insetos com as moléculas químicas aplicadas sobre as plantas para o controle de pragas, sendo, neste caso, a interação inseto-flor prejudicada, o que de fato torna-se de grande importância por interferir no processo de polinização, e conseqüentemente na perpetuação das angiospermas.

## 2.6 Efeitos de agrotóxicos sobre abelhas

Além de serem consideradas importantes agentes polinizadores, principalmente em cultivos comerciais, as abelhas são também a fonte de renda de muitas famílias rurais, que tem a apicultura como principal atividade lucrativa. Em virtude disso, vários estudos têm investigado o porquê do “sumiço” das abelhas nos campos e a decadência de muitas colmeias, relatados pelos apicultores. Para Kremen et al. (2002) este grupo de insetos vêm sendo comprometido pelas doenças e intoxicações por agrotóxicos, que estão dizimando estes organismos dos ecossistemas, além da contínua degradação da paisagem agronatural comprometendo o processo de polinização natural, exigindo dos produtores a implantação de colmeias em meio aos cultivos como forma de manutenção dos insetos no sistema, porém tem

enfraquecido as populações destes insetos, provavelmente em função da contaminação por agrotóxicos.

Mussen et al. (2004) relataram que fungicidas contaminantes da alimentação de abelhas interferem no seu desenvolvimento larval e pupal, comprometendo a metamorfose do inseto, levando-os a más formações morfológicas. Atkins e Kellum (1986) constataram alterações induzidas por agrotóxicos na morfologia de abelhas. Whitehorn et al. (2012) constataram redução no crescimento do inseto, no tamanho da colônia, bem como na produção de rainhas de abelhas devido ao efeito tóxico do inseticida neonicotinoide imidaclopride, o que justificaria a ausência e/ou diminuição deste inseto nos campos. Valdovinos-Núñez et al. (2009), estudando efeitos subletais de doses de permetrina e metomil (0,91 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O e 0,90 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O, respectivamente), também constataram que abelhas indígenas são altamente susceptíveis à estes inseticidas.

A contaminação das abelhas pode estar associada à imprecisão na aplicação dos agrotóxicos, quando esses não atingem somente os alvos requeridos, além de falhas nas doses que são empregadas (PIMENTEL, 1995), aumentando a contaminação por ação de resíduos. De acordo com Pimentel e Burgess (2012) as quantidades de inseticidas aplicadas muitas vezes não atingem o inseto alvo e boa parte do que é aplicado é perdido por deriva, o que aumenta ainda mais problemas com intoxicações a longas distâncias por insetos não alvos. Se tratando de *A. mellifera*, segundo Thompson e Maus (2007), a exposição a doses subletais de inseticidas pode ter uma influência sobre a aprendizagem do inseto, sua capacidade de orientação, forrageamento e na sua prole.

Schneider et al. (2012), testando o método de identificação por radiofrequência para monitorar o efeito de doses subletais de inseticidas neonicotinoides imidaclopride (0,15 a 6,0 ng/ abelha) e clotianidina (0,05 a 2,0 ng/ abelha) em circunstâncias campo, constataram uma redução significativa na atividade de forrageamento de *A. mellifera* horas depois do contato oral com o produto químico misturado a um alimento artificial (solução 2 Mols de sacarose inodoro agregado a pedaços de cera). Segundo Decourtye et al. (2004), o inseticida neonicotinoide imidaclopride afeta negativamente a capacidade de aprendizagem das abelhas, comprometendo os reflexos de distensão da probóscide e prejudicando a memória olfativa do inseto.

Rossi (2010) avaliando os efeitos da exposição crônica a doses subletais (DL50/ 100, DL50/ 50 e DL50/ 10) do inseticida imidaclopride, no cérebro, ventrículo e túbulo de *Malpighi* de *A. mellifera*. Verificou que, após submeter os órgãos das abelhas expostas ou não aos inseticidas às análises morfológicas, por meio de análises histoquímicas e

imunocitoquímicas, 1, 3, 5, 7 e 10 dias após a exposição, observou alterações morfológicas nos lobos ópticos de todos os grupos expostos aos inseticidas.

Carvalho et al. (2009) constataram efeito *Knock down* para os insetos, permanecendo no fundo das gaiolas dos bioensaios com movimentos desordenados e trêmulos, seguido de morte após algumas horas, quando contaminados por meio de pulverização ou contato direto com doses subletais de deltametrina, tiametoxam, metidationa e abamectina.

Para Palmer et al. (2013) o efeito *Knock down* ocorre pelo fato dos inseticidas neonicotinoides serem produtos químicos com ação na região colinérgica, além disso, quando associados a outros agrotóxicos podem provocar neurotoxicidade potencializada nas abelhas, causando a sua morte. Nauen et al. (2003) relataram que o ingrediente ativo tiametoxam é provável precursor de um outro neonicotinoide, o clotianidina, possível metabolito secundário resultante da metabolização da molécula do tiametoxam, tanto pelas plantas, quanto pelos insetos contaminados, sendo por conseguinte, o clotianidina será tóxico para muitos insetos. Souza (2015) relatou que contaminação via oral, tópica e por contato com superfícies contaminadas com clotianidina são altamente tóxicas às abelhas na dose letal (DL<sub>50</sub>) 6,67 ng/μL.

Johnson et al. (2013) relataram que há uma grande possibilidade de diferentes produtos químicos com ação antibacteriana e fúngica à patologia de abelhas, utilizados pelos apicultores no manejo das colmeias, que interajam quimicamente, devido as valências do elementos químicos das moléculas. Considerando a toxicologia, a exposição simultânea a várias substâncias pode alterar uma série de fatores (absorção, ligação proteica, metabolização e excreção) que influem na toxicidade de cada uma delas em separado. Assim, a resposta final a tóxicos combinados pode ser maior ou menor que a soma dos efeitos de cada um deles, podendo-se ter um efeito aditivo, sinérgico, potencializado ou antagônico (LEITE e AMORIM, 2015). Logo, a interação destes produtos com os contaminantes externos (moléculas químicas de outros agrotóxicos) estaria causando maiores problemas de intoxicação das abelhas. Então, com o uso indiscriminado de agrotóxicos, estes problemas estão se tornando cada vez mais frequentes, evidenciando a necessidade de estudos dos efeitos deletérios dos diversos agrotóxicos aos insetos benéficos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local dos experimentos

Os experimentos (bioensaios) foram realizados no Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias (CCTA), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal, PB. Foram conduzidos com adaptações nas metodologias recomendadas por Carvalho et al. (2009) e Baptista et al. (2009).

#### 3.2 Procedências dos insetos

Espécimes de abelhas foram coletados em quadros de melgueira, de colônias do Apiário Central do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), localizado na fazenda experimental da UFCG, localizada na cidade de São Domingos de Pombal – PB. Neste apiário, as colmeias são instaladas em estruturas racionais, estruturas de madeira do tipo *Langstroth*, mantidas no ambiente natural da Caatinga do Semiárido da cidade de Pombal – PB. Antes da coleta dos espécimes, as colmeias passaram por um processo de preparação para à obtenção e seleção dos insetos para experimentação.

Na fase de preparação, o manejo das colônias constou de alimentação artificial energética na forma de xarope de água e açúcar na proporção 1:2, enriquecido de 2,5% de Glicopan® (produto a base de aminoácidos livres) e de 2,5% de Aminomix® (produto composto por vitaminas, minerais e aminoácidos). Foram fornecidos semanalmente em alimentadores individuais, 500 mL por alimentação, de forma que estimulasse as colmeias à produção massal de novas abelhas, atingindo o estado populacional adequado para os bioensaios.

Para seleção das colmeias de onde as abelhas foram retiradas, levou-se em consideração critérios como: o aspecto geral da população, sendo adequadas àquelas que apresentaram todos os espaços do ninho configurados para produção de formas jovens (crias), uma quantidade de abelhas adultas no interior capaz de cobrir 2/3 da área de criação e uma atividade de coleta de alimentos que resultava em um fluxo de retorno do campo acima de 100 (cem) abelhas por minuto.

Para os bioensaios, foram coletadas, diretamente das colmeias selecionadas, quadros contendo ninhos de abelhas operárias na fase de pré-emergência à fase adulta, a fim de se obter adultos recém-emergidos. Os quadros foram acondicionados em uma caixa de madeira adaptada em veículo motorizado para transportá-las até o laboratório de Entomologia, onde os bioensaios foram conduzidos.

### 3.3 Inseticidas neonicotinoides analisados

Para os testes de toxicidade, foram selecionados quatro inseticidas neonicotinoides. Os produtos foram aplicados nas maiores e menores concentrações recomendadas pelos fabricantes para controle de insetos pragas na cultura do meloeiro. Os inseticidas com seus respectivos nomes comerciais, ingredientes ativos e concentrações utilizadas (dose) estão descritos na tabela 1. Cada dosagem dos neonicotinoides representou um tratamento, sendo a testemunha constituída somente de água destilada.

Tabela 1. Nomes comerciais, ingredientes ativos e doses dos inseticidas do grupo dos neonicotinoides avaliados em testes de toxicidade sobre operárias de *Apis mellifera* em condições de laboratório.

Nome comercial	Ingrediente Ativo	Dose (g p.c./ L de água)	
		Menor	Maior
Actara 250 WG	Tiametoxam	0,3	3,0
Evidence 700 WG	Imidaclopride	1,0	1,5
Mospilan	Acetamipride	0,25	0,3
Orfeu	Acetamipride	0,25	0,3

#### 3.3.1 *Apis mellifera* contaminadas por pulverização direta de neonicotinoides

As contaminações por contato direto foram realizadas diretamente sobre as abelhas por meio de um pulverizador pressurizado manualmente, com capacidade de 500 mL e vazão de 0,58 mL/ s e taxa de aplicação média  $1,5 \pm 0,5$  mL de calda química/ cm<sup>2</sup>. Foram utilizadas 50 abelhas para cada tratamento, sendo cinco repetições com 10 insetos, que eram acondicionadas em placas de Petri de 10 cm de diâmetro e contaminadas por pulverização direta com os inseticidas descritos na Tabela 1.

Em seguida, os 10 insetos foram transferidos para cada caixa de madeira (11,0 cm de comprimento x 11,0 cm de largura x 7,0 cm de altura), contendo orifícios nas laterais vedados com tela de nylon para ventilação. As caixas eram previamente forradas com papel filtro na sua base interna e continham um tampa de vidro transparente na parte superior, de acordo com metodologia proposta por Maracajá et al. (2006) para bioensaios de toxicologia de abelhas. Foi fornecido ainda as abelhas, alimento composto de 10 g de pasta Cândi acondicionado em alimentador, contendo ainda um pedaço de algodão embebido em água destilada. O bioensaio foi mantido em sala climatizada a  $25 \pm 2$  C°, UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase. No intervalo de uma; duas; três; seis; 12; 24; 48; 72 e 96 horas, após exposição das abelhas aos produtos, foi observada a ação dos inseticidas sobre as mesmas, avaliando-se

como parâmetro biológico o índice de mortalidade ao longo do tempo, verificando o número de insetos mortos, bem como o comportamento nos intervalos de observação, segundo a metodologia de Carvalho et al. (2009) e Baptista et al. (2009).

### 3.3.2 *Apis mellifera* contaminadas com dietas contendo neonicotinoides

Para a contaminação por meio de dieta, a calda química de cada produto em suas respectivas dosagens foi incorporada ao mel, empregando-se a dosagem calculada em função da relação peso/ volume e, em seguida, adicionou-se açúcar de confeitiro (100 g) para preparação da pasta Cândi, obtendo uma dieta homogênea para cada tratamento, sendo 30% de calda química em 100 mL de mel.

Foram utilizadas 100 abelhas com até 48 horas de idade para cada tratamento, oriundas dos quadros de melgueira, sendo cinco repetições contendo 20 insetos. Essas abelhas foram transferidas para caixas de madeira, conforme descrito anteriormente e seguindo a metodologia proposta por Maracajá et al. (2006) para bioensaios com toxicologia de abelhas. Em cada gaiola foi oferecida a pasta Cândi (10 g) contaminada, de acordo com o tratamento, em um alimentador improvisado (tampinha de garrafa pet esterilizada), coberto com tela de aço, facilitando o acesso das abelhas ao mesmo e evitando a morte por afogamento. Ao lado foi adicionado um chumaço de algodão embebido em água destilada também em tampinha de garrafa pet esterilizada, como fonte de água. Como testemunha negativa foi utilizada pasta Cândi sem contaminação por inseticida (mel e açúcar de confeitiro), com chumaço de algodão embebido com água destilada, como fonte de água. O bioensaio foi mantido em sala climatizada a  $25 \pm 2$  C°, UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase.

No intervalo de uma; duas; três; seis; 12; 24; 48; 72 e 96 horas, após o início da exposição das abelhas aos produtos, foi observada a toxicidade dos inseticidas sobre as mesmas até a sua morte. Para cada tratamento, o parâmetro biológico avaliado foi o índice de mortalidade dos animais, que consistiu da contagem de insetos mortos ao longo do tempo, sendo consideradas mortas apenas as abelhas que não apresentassem nenhum movimento, mesmo quando pressionadas com a ponta de um pincel de ponta fina.

### 3.4 Análises estatísticas dos dados biológicos

No bioensaio de contaminação por contato direto utilizou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com 09 tratamentos (item 3.3.1). Foram utilizadas 50 abelhas por tratamento, sendo cinco repetições com 10 adultos de abelhas recém-emergidas por parcela.

O delineamento experimental utilizado para o bioensaio de contaminação por alimentação foi também em DIC com 09 tratamentos (item 3.3.2) e cinco repetições, sendo cada unidade experimental constituída de 20 adultos de abelhas operárias 48 horas de idade.

A análise estatística foi realizada por meio do programa GraphPadPrism (v.5 for Mac). A mediana do tempo de sobrevivência com intervalo confiança de 95% e diferenças significativas entre grupos foram estimados usando teste de Kaplan–Meier seguido por log-rank test. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Toxicidades de neonicotinoides após pulverizações sobre *A. mellifera*

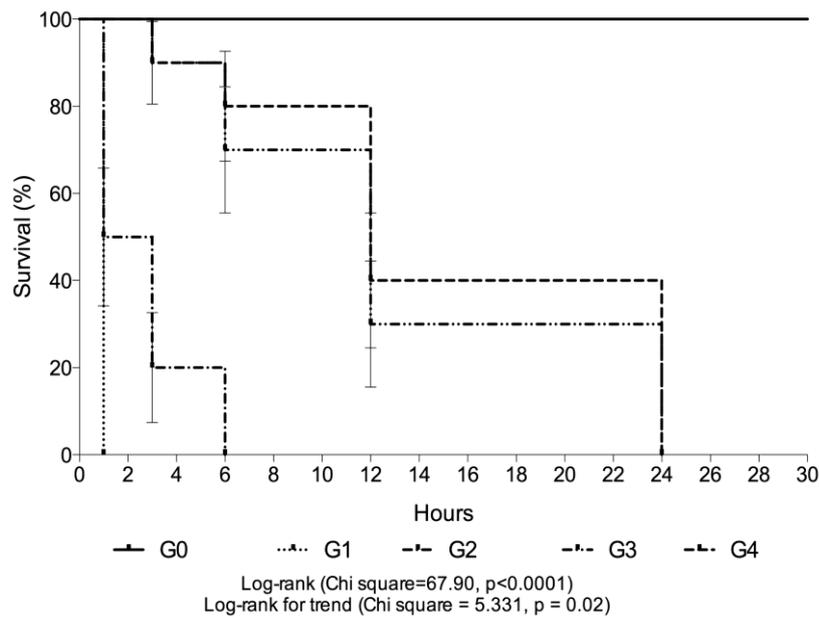
Todos os inseticidas avaliados foram tóxicos às abelhas africanizadas, até 24 horas após contaminação dos insetos com as caldas químicas nas maiores dosagens indicadas pelos fabricantes, ocasionando 100% de mortalidade das abelhas (Figura 1). Porém, o inseticida neonicotinoide tiametoxam evidenciou sintomas de contaminação até 1 hora após o contato direto das abelhas com a sua molécula química, ocasionando 100% de mortalidade até esse período, caracterizando-o como o mais tóxico para as abelhas entre os inseticidas testados.

O inseticida imidaclopride foi o segundo mais deletério para as abelhas, seus efeitos tóxicos se evidenciaram nas primeiras horas após contato direto das abelhas com sua molécula química, ocasionando hiperexcitação, paralisia e desorientação; porém até 6 horas após o contato as abelhas ainda encontravam-se vivas, com mortalidade total após este período (Figura 1).

Já os inseticidas contendo o ingrediente ativo acetamipride, embora também tenham apresentados sintomas de intoxicação semelhantes aos demais nas primeiras horas, as abelhas resistiram até 24 horas após o contato direto com sua molécula química. Para a testemunha, as abelhas apresentaram longevidade de 18 dias, em média, mesmo em meio aos fatores “adversos” laboratoriais existentes, pelo fato de serem removidas do ambiente natural e expostas a condições artificiais.

Embora os sintomas de intoxicação apresentados pelas abelhas após o contato destas com as moléculas químicas dos inseticidas estudados terem sido observados nas primeiras horas de contato, o tempo de vida útil das abelhas variou significativamente entre o tratamento testemunha e todos os produtos químicos, e estes últimos entre si.

Provavelmente estas variações estejam relacionadas às diferentes formas de absorção dos inseticidas pela cutícula dos insetos, como a efetiva interação das caldas químicas com as camadas tegumentares, lipoproteínas que constituem parte do exoesqueleto, que por sua vez pode apresentar característica hidrofóbica, retardando a absorção de inseticidas com molécula química polar; além disso, as contaminações tarsais por contato nas superfícies contaminadas ou pelas vias respiratórias (espiráculos) podem ser distintas entre os inseticidas avaliados.



**FIGURA 1.** Sobrevivência em (%) de operárias de *Apis mellifera* contaminadas por pulverização direta de caldas com os inseticidas tiametoxam, imidaclopride ou acetamipride, nas maiores doses recomendadas pelos fabricantes para a cultura do melão. Nota: G0: controle, calda constituída de água destilada; G1: tiametoxam (3,0 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O); G2: imidaclopride (1,5 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O); G3: Mospilan<sup>®</sup>/ acetamipride (0,3 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O); G4: Orfeu<sup>®</sup>/ acetamipride (0,3 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O).

Considerando os resultados, pode-se compreender a importância dos problemas ambientais que estes inseticidas podem ocasionar, uma vez que, intoxicações de abelhas *A. mellifera* em condições laboratoriais foram observados.

A importância desses ensaios toxicológicos sobre abelhas são do pressuposto que a maioria dos neonicotinoides são também aplicados via pulverização foliar (THOPSOM, 2010; BLACQUIÈRE et al., 2012), podendo assim tornar as abelhas que forrageiam nos cultivos agrícolas alvo fácil em meio a aplicação das caldas químicas, apesar de inicialmente terem sido fabricados e comercializados com intuito de aplicações por tratamento de sementes e ou via pulverização no colo das plântulas.

Outro fator importante é que estas contaminações via área foliar nas fases fenológicas de crescimento vegetativo, deixam resíduos nas folhas, e muitas vezes também em flores da própria cultura ou de plantas daninhas encontradas próximo aos cultivos tratados KRUPKE et al. (2012), provavelmente contaminadas por deriva, aumentando ainda mais a disponibilidade de moléculas químicas que poderiam entrar em contato com as abelhas forrageiras

KRUPKE et al. (2012) relataram encontrar resíduos de inseticidas, e entre estes, do inseticida tiametoxam em abelhas mortas nos apiários. Logo, as abelhas operárias forrageiras, provavelmente, se contaminaram com as moléculas do tiametoxam quando aplicadas nos cultivos para o controle de pragas, o que corrobora com a hipótese de que a intoxicação por estes agrotóxicos estão causando a diminuição ou desaparecimento das abelhas em campos agrícolas, local em que a sua presença é de fundamental importância, principalmente para produção no cultivo do meloeiro.

Quando se utilizaram as menores dosagens dos inseticidas indicadas pelos fabricantes, as abelhas também apresentaram sintomas de intoxicação em até 1 hora após o contato direto, mas só foi possível observar 100% de mortalidade após 6 horas de exposição nos tratamentos com tiametoxam e imidaclopride, e após 48 horas no tratamento com acetamipride. Em ambas as formulações avaliadas, tendo os resultados diferindo da testemunha, que permitiu longevidade média de 18 dias (Figura 2). Salientando que, o tiametoxam se apresentou como o mais tóxico entre os inseticidas analisados, seguido do imidaclopride, mesmo nas menores doses.

Tais resultados corroboram com os obtidos por Noninato (2012), que através de testes de contato de *A. mellifera* com tiametoxam, relatou que este produto se mostrou 100% letal 6 horas após sua aplicação sobre os insetos, na concentração de 100 ppm.

Os testes com este inseticida têm levado em consideração concentrações arbitrárias de possíveis contaminações. Neste estudo as concentrações se assemelham àquelas aplicadas no campo, segundo as recomendações do fabricante, onde as menores doses são indicadas para serem aplicadas quando os insetos estão em fase de estabelecimento no cultivo e as maiores doses quando o nível de população atingir níveis mais elevados de controle da praga na cultura do melão, principalmente para mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Diptera: Aleyrodidae).

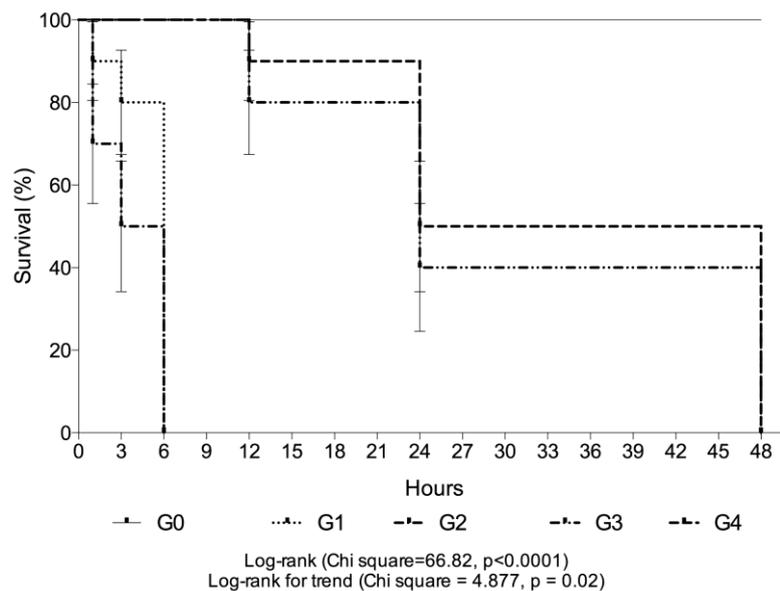
Carvalho et al. (2009) também consideraram o tiametoxam extremamente tóxico às abelhas africanizadas quando aplicado sob pulverização de calda química contendo 150 g p.c./ L de água, o suficiente para causar a morte de 71% dos insetos. Costa et al. (2014) avaliaram o efeito tóxico da maior dose de tiametoxam indicada pelos fabricantes para o controle de pragas em meloeiro, que dependendo do inseto a ser controlado pode chegar a 600 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O, também relataram que quando pulverizados sobre *A. mellifera*, causou a morte dos insetos em poucas horas, considerando o inseticida como extremamente tóxico.

No entanto, Pereira (2010) ao avaliar a toxicidade de tiametoxam sobre as abelhas melíferas, registrou mortalidade 2 a 8 horas após a aplicação tópica em dose única do

inseticida (17 ng/ abelha), sendo essa dose considerada a  $DL_{50}$ . Porém, depois deste período (8h), nenhuma abelha morta foi encontrada, sugerindo a metabolização completa do composto tóxico pelas abelhas remanescentes. Resultados que diferem do encontrado neste trabalho, onde houve 100% de mortalidade em menos de 8h.

As diferenças nas mortalidades das abelhas entre os bioensaios possivelmente ocorreram em virtude das metodologias escolhidas pelos autores, uma vez que, Pereira (2010) utilizaram 17 ng/ abelha, concentração inferior à utilizada no presente estudo.

O contato tópico dos inseticidas tiametoxam, imidaclopride e acetamipride em *A. mellifera* se mostraram tóxicos para ambas as dosagens indicadas pelos fabricantes para a cultura do melão e utilizadas na presente pesquisa. Nauen et al. (2001b) e Schumuck et al. (2003) indicaram que a  $DL_{50}$  tópica de imidaclopride para abelhas *A. mellifera* variou de 49 a 102 ng/ abelha e de 42 a 104 ng/ abelha, respectivamente. Ambos os autores relataram a toxicidade do inseticida imidaclopride às abelhas, resultado também observado no presente trabalho.



**FIGURA 2.** Sobrevivência em (%) de operárias de *Apis mellifera* contaminadas por pulverização direta de caldas com os inseticidas tiametoxam, imidaclopride ou acetamipride, nas menores doses recomendadas pelos fabricantes para a cultura do melão. Nota: G0: controle, calda constituída de água destilada; G1: tiametoxam (0,3 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O); G2: imidaclopride (1,0 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O); G3: Mospilan®/ acetamipride (0,25 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O); G4: Orfeu®/ acetamipride (0,25 g p.c./ L de H<sub>2</sub>O).

Segundo Tomizawa; Casida (2003), o inseticida imidaclopride é também considerado altamente tóxico para as abelhas, devido à presença de um grupo funcional nitro, que confere a este inseticida grande afinidade ao receptor nicotínico de acetilcolina e, portanto, alta toxicidade. Soares (2012), avaliando a toxicidade de imidaclopride em

meliponíneos, identificou a dose letal ( $DL_{50}$ ) tópica de 25,20 ng i.a./  $\mu$ L/ abelha em 24 horas, relatando ainda sintomas de intoxicação como hiperexcitação, paralisia e desorientação, que se assemelha ao efeito *Knock Down*. Resultados também identificados no presente trabalho.

Pode-se observar no bioensaio em que se realizaram pulverizações, que todos os inseticidas testados se apresentaram tóxicos às abelhas. Quando as mesmas foram contaminadas com a calda química contendo as menores dosagens de Mospilan® ou Orfeu®, ambos contendo o ingrediente ativo acetamipride, os insetos apresentaram sintomas de toxicidade a partir da primeira hora, porém foram contabilizadas as primeiras mortes a partir da 12ª hora após a contaminação, atingindo 100% de mortalidade após 48 horas. Diferente dos demais inseticidas, onde as abelhas não resistiram à exposição além de 6h.

Costa et al. (2014), avaliando o efeito tóxico da maior dose de acetamipride indicada pelos fabricantes para o controle de pragas em meloeiro, contaminando-as por pulverização direta, o consideraram tóxico para *A. mellifera*, com 100% de mortalidade dos insetos em até 2 horas, coincidindo com os resultados observados no presente trabalho, diferindo apenas no tempo letal.

No entanto, Iwasa et al. (2004) observaram metabólitos resultantes da contaminação por acetamipride em abelhas e relataram que estes não são altamente tóxicos quando aplicados topicamente nas abelhas na dose de 50  $\mu$ g/ abelha, diferindo dos resultados encontrados no presente trabalho.

Para Iwasa et al. (2004), a toxicidade dos neonicotinoides é alterada em função do radical ligado ao nitrogênio principal da cadeia carbônica da molécula química, o que pode variar sua Dose Letal ( $DL_{50}$ ) em termos consideráveis, ou até formar um outro produto. Assim, quando na cadeia carbônica da molécula existir um radical de um grupo químico ciano, que pode substituir o grupo nitro nas constantes reações de desintegração das moléculas, a toxicidade da molécula diminui, justificando a menor toxicidade apresentada pelo acetamipride que tem em sua cadeia carbônica a presença de um radical de um grupo ciano.

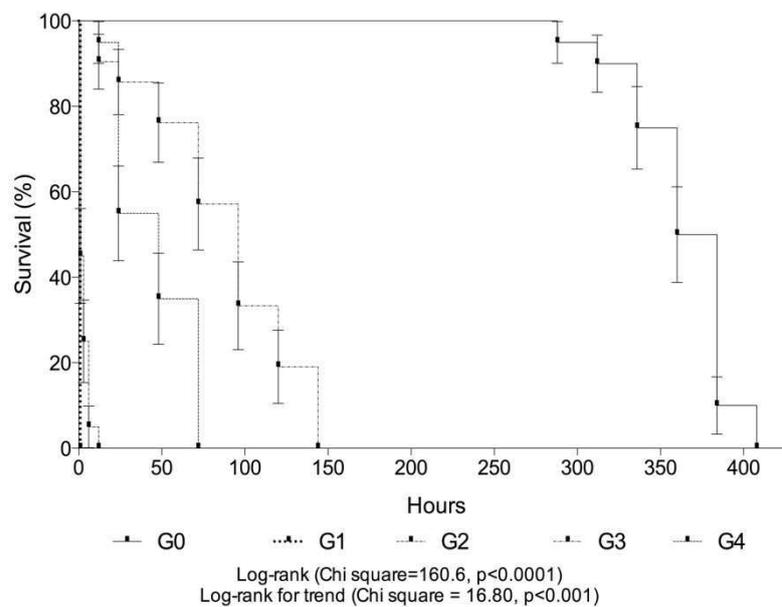
Porém, no presente trabalho, nas dosagens analisadas, o inseticida neonicotinoide contendo ingrediente ativo acetamipride apresentou-se tóxico às abelhas nas duas formulações encontradas, ou seja, supostamente as moléculas químicas testadas apresentavam na cadeia carbônica um radical nitro, o que justificaria possíveis desacordos entre os resultados propostos por outros autores.

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que, embora apresentando baixa toxicidade, menores doses são menos tóxicas às abelhas que as maiores doses, quando

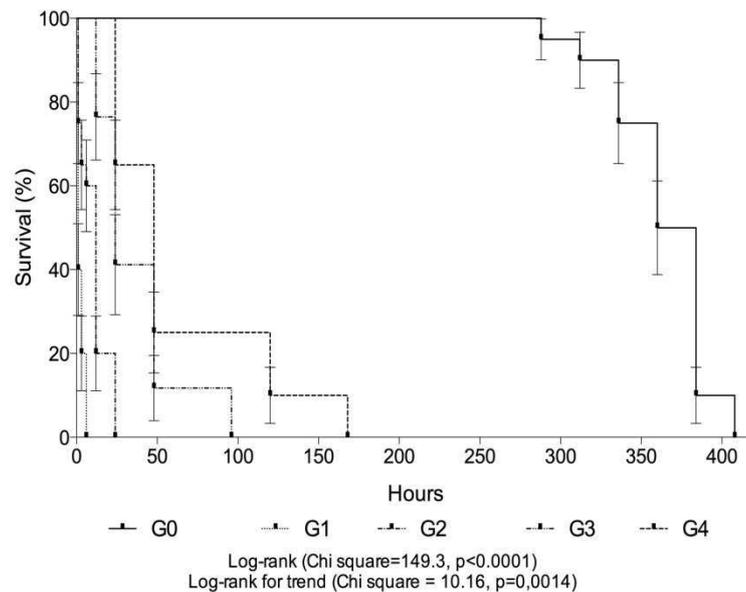
pulverizadas sobre abelhas *A. mellifera*, presumindo que doses ainda menores provavelmente seriam menos tóxicas. Salienta-se ainda que, é de extrema importância que ocorra responsabilidade com o uso de neonicotinoides pelos produtores de melão, com respeito ao meio ambiente, fator imprescindível para a redução das aplicações destes produtos no campo, resultando na provável manutenção das abelhas nas áreas de produção.

#### 4.2 Efeitos de pasta cândi contaminadas com neonicotinoides sobre *A. mellifera*

Após uma hora da oferta do alimento contaminado, verificou-se que a maior dosagem (3,0 g p.c./ L de água) do inseticida neonicotinoide tiametoxam, causou efeito altamente tóxico às abelhas, com mortalidade de todos os insetos das parcelas experimentais (Figuras 3) sendo que na menor dosagem de tiametoxam (0,3 g p.c./ L de água) adicionada na pasta cândi e oferecida as abelhas, também apresentou efeito tóxico, porém, em até 24 h (Figura 4).



**FIGURA 3.** Sobrevivência em (%) de operárias de *Apis mellifera* alimentadas com Pasta Cândi contaminada com tiametoxam, imidaclopride ou acetamipride, nas maiores doses recomendadas pelos fabricantes para a cultura do melão. Nota: G0: controle, Pasta Cândi sem inseticida + água destilada; G1: Pasta Cândi + inseticida tiametoxam (3,0 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O); G2: Pasta Cândi + imidaclopride (1,5 g p. c. /L de H<sub>2</sub>O); G3: Pasta Cândi + Mospilan<sup>®</sup>/ acetamipride (0,3 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O); G4: Pasta Cândi + Orfeu<sup>®</sup>/ acetamipride (0,3 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O).



**FIGURA 4.** Sobrevivência em (%) de operárias de *Apis mellifera* alimentadas com Pasta Cândia contaminada com tiametoxam, imidaclopride ou acetamipride, nas menores doses recomendadas pelos fabricantes para a cultura do melão. Nota: G0: controle, Pasta Cândia sem inseticida + água destilada; G1: Pasta Cândia + tiametoxam (0,3 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O); G2: Pasta Cândia + imidaclopride (1,0 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O); G3: Pasta Cândia + Mospilan®/ acetamipride (0,25 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O); G4: Pasta Cândia + Orfeu®/ acetamipride (0,25 g p. c./ L de H<sub>2</sub>O).

Efeitos semelhantes foram encontrados por Carvalho et al. (2009), onde as abelhas apresentaram movimentos desordenados e trêmulos, morrendo após algumas horas, depois de serem expostas à doses subletais (150 g/ L de H<sub>2</sub>O) de tiametoxam. Antunes-Kenyon e Kennedy (2001), que observaram mortalidades em menos de 3 horas, tiametoxam ocasionou 89% de mortalidade das abelhas, quando expostas à alimentação contaminada e a pulverização de calda contendo o inseticida.

Estes resultados corroboram também com aqueles encontrados por Laurino et al. (2011), que relataram que além dos danos diretos, os efeitos causados pelas moléculas químicas de tiametoxam pode apresentar ação citotóxica, causando vacuolização citoplasmática, ou seja, formação de vacúolos claros, no intestino médio das abelhas. Fato este, relatado também por Oliveira et al. (2013), avaliando efeitos deletérios no intestino médio das abelhas, causados por moléculas químicas. Catae et al. (2014) após exposição em até 8 dias de abelhas *A. mellifera* a uma dieta contendo dose subletal de tiametoxam de 1/ 10 da CL<sub>50</sub> (0,0428 ng i.a./ L de dieta), relataram que o inseticida foi citotóxico para os tubos de *Malpighi* e intestino médio, e a exposição contínua a uma dose subletal de tiametoxam pode prejudicar órgãos que são responsáveis pelo metabolismo da molécula inseticida.

O inseticida neonicotinoide Evidence 700 WG<sup>®</sup>, que contém o ingrediente ativo imidaclopride, na maior e menor dosagem, 1,5 g p.c. e 1,0 g p.c., respectivamente, também se mostrou tóxico às abelhas quando aplicado junto com o alimento, semelhante ao tiametoxam, porém, as mortalidades das abelhas ocorreram em até 48 horas (Figura 4). Essas toxicidades refletem significativamente no tempo de vida desses organismos, diminuindo consideravelmente, quando em comparação à sua vida útil que pode apresentar média de 960 horas, o equivalente a 40 dias (ROCHA, 2008). No presente trabalho, o tratamento controle apresentou uma vida útil de 18 dias, em média, em condições laboratoriais.

Os inseticidas Orfeu<sup>®</sup> e Mospilan<sup>®</sup>, ambos com mesmo ingrediente ativo, acetamipride, nas concentrações de 0,3 g p.c. e 0,25 g p.c., também se mostraram tóxico às abelhas. No entanto, apresentaram toxicidade depois de 78 horas, reduzindo em até 11 dias a vida útil das abelhas, quando comparado ao tempo de sobrevivência do tratamento testemunha. Ambos os tratamentos diferiram estatisticamente do tratamento testemunha, que apresentou média de 18 dias.

Experimentalmente, as moléculas químicas causaram a morte precoce das abelhas, presumindo-se que em campo estas abelhas, se contaminadas, não retornariam para a sua colônia, uma vez que estariam vulneráveis ao ataque de seus predadores, em virtude dos sintomas de intoxicação apresentados, observados no presente estudo. Após trinta minutos do tratamento oral com imidaclopride em abelhas, Decourtye et al. (2004) verificaram uma deficiência no aprendizado olfativo contextualizado por meio da resposta de extensão da probóscida, ou seja, a molécula química compromete o funcionamento do cérebro do inseto, levando-o a morte.

Medrzycki et al. (2003), avaliando o efeito das doses subletais do imidaclopride, no comportamento de abelhas *A. mellifera*, observaram uma diminuição da mobilidade e da comunicação entre os insetos, o que pode comprometer o comportamento social delas.

Tomé et al. (2012), constataram mudanças no comportamento de abelhas sem ferrão, ao alimentá-las com dieta contaminada com imidaclopride. Bortolotti et al. (2003), testando diferentes concentrações (100 ppb, 500 ppb e 1000 ppb) de imidaclopride no mel para alimentação, relataram que as abelhas que se alimentaram do mel contendo 100 ppb retornaram para a colméia, e voltaram para visitar o alimentador apenas 24 horas após a liberação em campo, as abelhas que se alimentaram do mel contendo 500 ppb e 1000 ppb desapareceram completamente após a liberação em campo, não sendo mais vistas durante as 24 horas seguintes, configurando o produto como tóxico nestas concentrações.

Estes dados estão de acordo com Faucon et al. (2005), que também relataram que houve toxicidade do imidaclopride em relação às atividades das abelhas adultas, à frequência de condução de pólen durante o forrageamento e ao número de células operculadas. Tais eventos provavelmente foram causados devido aos efeitos (hiperexcitação/ tremores) provocados pelas moléculas agonistas da acetilcolina, ingredientes ativos dos neonicotinoides. Provavelmente em virtude desses efeitos colaterais, esteja ocorrendo um comprometimento no crescimento das colônias no campo, por falta de alimento e até mesmo de novos indivíduos, como relatado por Whitehorn et al. (2012).

A avaliação da toxicidade às abelhas pelos inseticidas testados, com suas respectivas doses, mostra que, se exposta à alimentação contaminada, esta causará sua morte em pouco tempo, o que justificaria o não retorno destas às colônias, causando possivelmente um desequilíbrio ambiental na área em que houvesse uso desses inseticidas. A contaminação pelas abelhas pode ocorrer ao coletar néctar e grãos de polens contaminados, uma vez que os neonicotinoides são sistêmicos e podem estar presentes nestes componentes florais da planta de meloeiro tratada com os inseticidas.

Como citado anteriormente, pode-se notar que nos tratamentos com os inseticidas tiametoxam e imidaclopride, ocorreram sintomas de intoxicação logo após o início do consumo dos alimentos contaminados, como falta de coordenação motora (tremores) e prostração no fundo dos recipientes (Figura 5). Além disso, observaram regurgitações do alimento consumido, evidenciados na placa de vidro presentes nas caixas em que as abelhas foram acondicionadas. Isso se deve possivelmente ao fato desses inseticidas ser de ação neurotóxica, atuando no sistema nervoso central dos insetos, agindo como agonistas da acetilcolina nos receptores nicotínicos pós-sinápticos (NAUEN et al., 2001), porém, não são degradados pela enzima acetilcolinesterase, o que causa a hiperexcitação (tremores) e consequentemente a morte dos insetos (CARVALHO et al., 2009).



**FIGURA 5.** Operárias de *Apis mellifera* após 1 hora do início da alimentação com Pasta Cândia contaminada com a maior dosagem de tiametoxam recomendada pelo fabricante para uso na cultura do melão.

Todos os tratamentos em suas menores doses apresentavam sintomas de intoxicação a partir de 6h após a exposição por alimentos contaminados, porém também diminuíram o tempo de sobrevivência das abelhas com valores médios de 6h; 96h e 168h (Figura 4), para o tiametoxam, imidaclopride e acetamipride, respectivamente, ou seja, tempos distintos aos observados nas maiores doses utilizadas.

Segundo Iwasa et al. (2004), o neonicotinoide tiametoxam, apresenta um agrupamento nitro (N-nitroguanidina), fazendo com que esta molécula seja em média 192 vezes mais tóxica às abelhas que aquelas que possuem o agrupamento ciano (N-cianoamidina) como o acetamipride, o que provavelmente justificaria a diferença de toxicidade em tempos letais às abelhas. Para estes mesmos autores a baixa toxicidade do acetamipride em relação aos demais neonicotinoides estudados neste trabalho estaria associada à alta capacidade de detoxificação dessas moléculas mediadas pelas enzimas dependente do citocromo P450 das células nervosas. Este mesmo autor relata que imidaclopride é em torno de 400 vezes mais tóxico que o acetamipride.

Brunet, Badiou e Belzunces (2005) estudaram o metabolismo do acetamipride em operárias de *A. mellifera*, relataram que quando operárias adultas receberam oralmente acetamipride contendo radioisótopo, os autores verificaram que mais de 50% do acetamipride foi metabolizado em diferentes partes do corpo do inseto (cabeça, tórax, abdome, hemolinfa, intestino médio e reto) em menos de 30 minutos, indicando uma meia-vida bastante curta. Durante as primeiras horas, os autores verificaram também maior frequência do acetamipride nos receptores nicotínicos de acetilcolina do abdome, tórax e cabeça.

Iwasa et al. (2004) também trabalhando com abelhas *A. mellifera*, verificaram que os produtos resultantes do metabolismo do acetamipride não apresentam grande toxicidade, o que justificaria a diferença significativa, resultado do presente estudo, entre o efeito tóxico do acetamipride, tiametoxam e imidaclopride. Essa diferença pode ser explicada pela menor afinidade aos receptores nicotínicos de acetilcolina que o acetamipride apresenta quando comparado ao imidaclopride (TOMIZAWA, LEE e CASIDA, 2000; TOMIZAWA e CASIDA, 2003). Com base nessas informações supõem que essas diferenças dos tempos letais dos produtos observados no presente estudo indicam que menores concentrações poderiam ser menos tóxicas às abelhas, porém, há uma indagação quanto à viabilidade tóxica para os insetos praga.

Muitos são os desafios para serem descobertos em campo, a fim de analisar a situação real da relação inseto e agrotóxicos. Porém, de acordo com os resultados obtidos e analisados no presente estudo, é sugerido que à aplicação de inseticidas neonicotinoides devam ser realizadas em não coincidência com o período de floração das plantas de meloeiro, a fim de que não ocorra a contaminação das abelhas presentes nos cultivos nesta fase fenológica da cultura.

Vários autores relataram a toxicidade dos inseticidas neonicotinoides sobre abelhas. O presente estudo indica que as dosagens recomendadas pelos fabricantes para o controle de pragas do meloeiro também são tóxicas para as abelhas, seja a contaminação por pulverização ou por ingestão de alimento contaminado.

## 5 CONCLUSÕES

Independente do modo de exposição das abelhas aos agrotóxicos avaliados, tiametoxam, imidaclopride e acetamipride foram tóxicos para operárias de *Apis mellifera*.

O inseticida tiametoxam foi o mais tóxico às operárias de abelhas entre os ingredientes ativos avaliados, independente da dose e modo de exposição aos insetos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES-KENYON, S. E.; KENNEDY, G. Thiametoxam: a new active ingredient review: Massachusetts: **Massachusetts Pesticides Bureau**, 2001. 37p.
- ATKINS, E. L.; KELLUM, D. Comparative morphogenic and toxicity studies on the effect of pesticides on honeybee brood. **Journal of Apicultural Research**, v.25, p.242-255, 1986.
- BARBOSA, M. F. **Abelhas e vespas visitantes florais em *Malpighiaceae***. Disponível em: <[http://www.cefaprocaceres.com.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=865&Itemid=76](http://www.cefaprocaceres.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=865&Itemid=76)> Acesso em: 14 de jan. de 2015.
- BARNETT, E. A.; CHARLTON, A. J.; FLETCHER, M. R. Incidents of bee poisoning with pesticides in the United Kingdom, 1994-2003. **Pest Management Science**, West Sussex, v.63, n.11, p.1051-1057, nov., 2007.
- BAPTISTA, A. P. M.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, S. M.; CARVALHO, C. F.; BUENO FILHO, J. S. S. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.4, p.955-961, jul., 2009.
- BLACQUIÈRE, T.; SMAGGHE, G.; VAN GESTEL, C. A.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: A Review on Concentrations, Side-Effects and Risk Assessment. **Ecotoxicology**, v.21, n.4, p.973-992, 2012.
- BORTOLOTTI, L.; MONTANARI, R.; MARCELINO, J.; MEDRZYCKI, P.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v.56, n.1, p.63-67, mar., 2003.
- 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**, West Sussex, v.61, n.8, p.742-748, ago., 2005.
- CARVALHO, S. M.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, C. F.; BUENO FILHO, J. S. S.; BAPTISTA, A. P. M. Toxicidade de acaricidas/ inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.597-606, out./dez., 2009.
- CATAE, A. F.; ROAT, T. C.; OLIVEIRA, R. A.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O. Cytotoxic Effects of Thiamethoxam in the Midgut and Malpighian Tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Microscopy Research and Technique**, New York, v.77, p.274-281. Jan., 2014.
- CHAGAS, I. D. **Os Impactos dos Agroquímicos Sobre o Meio Ambiente**. Disponível em: <<http://meuartigo.brasilecola.com/biologia/os-impactos-agroquimicos-sobre-meio-ambiente.htm>> Acesso em: 10 de jan. de 2015.
- CHAUZAT, M. P.; FAUCON, J. P.; MARTEL, A. C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. **Journal of Economic Entomology**. v.99, p.253-262. 2006.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de Sobrevivência Aplicada**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006. 392p.

CORDÃO TERCEIRO NETO, C. P.; MEDEIROS, J. F.; GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; OLIVEIRA, F. R. A. Crescimento e composição mineral do tecido vegetal do melão ‘pele de sapo’ sob manejos de água salina. **Irriga**, Botucatu, v.19, n.2, p.255-266, 2014.

COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MAIA, A. V. P.; SILVA, F. E. L.; BEZERRA, C. E. S. SILVA, J. G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie**, Paris. v. 45, p. 34-44. 2014.

DAVY, M. **Risk of Acephate use to the Federally Listed California Red Legged Frog (*Rana aurora draytonii*)**. Washington: Environmental Fate and Effects Division. 2007. 122p.

DAG, A.; EISIKOWITCH, D. The influence of hive location on honeybee foraging activity and fruit set in melons grown in plastic greenhouses. **Apidologie**, Paris, v.26, p.511-519, 1995.

DAG, A.; KAMMER, Y. Comparison between the effectiveness of honey bee (*Apis mellifera*) and bumble bee (*Bombus terrestris*) as pollinators of greenhouse sweet pepper (*Capsicum annuum*). **American Bee Journal**, v.141, p.447-448, 2001.

DANTAS, I. C.; OLIVEIRA, C. W.; SILVA, F. L.; SANTOS, F. S. S.; MARCO, C. A. Produção de melão amarelo sob diferentes densidades de plantio. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v.7, n.1, p.74-84, 2013.

DECOURTYE, A.; ARMENGAUD, M.; RENOU, M.; DEVILLERS, J.; CLUSEAU, S.; GAUTHIER, M.; PHAM-DELEGUE, M. H. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honey bee (*Apis mellifera* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.78, n.2, p.83-92, fev., 2004.

DE JONG, D.; GOLÇALVES, L. S.; AHMAD, F. Honey Bee. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. et al. (Eds.) **Bees as Pollinators in Brazil: Assessing the Status and Suggesting Best Practices**. Ribeirão Preto: Holos, p.63-73, 2006.

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

DURO, P. N. **Desenvolvimento de métodos eletroquímicos para quantificação de pesticidas neonicotinoides em amostras de água contaminadas**. Dissertação de Mestrado. Évora - Portugal, março de 2013.

FAIRBROTHER, A.; PURDY, J.; ANDERSON, T.; FELL, R. Risks the neonicotinoid insecticides to honey bee. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 33(4), p.719-731, 2014.

FAUCON, J. ; AURIÈRES, C.; DRAJNUDEL, P.; MATHIEU, L.; RIBIÈRE, M.; MARTEL, A.; FREEMAN, M. R.; DOHERTY, J. Glial cell biology in Drosophila and vertebrates. **Trends in Neurosciences**, Amsterdam, v.29, n.2, p.82-90, jan., 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **FAOSTAT: Agricultural Statistics. Data base 2011.** Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso: 5 de março de 2015.

FERNADES, O. A. **Pragas do Meloeiro.** Disponível em: <[http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/artigo\\_conteudo.php?op=6&i=3&si=82&ar=2280](http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/artigo_conteudo.php?op=6&i=3&si=82&ar=2280)> Acesso: 28 de Fevereiro de 2015.

FERRARI, A. **Agrotóxico: A praga a Dominação.** Porto Alegre: Mercado Aberto, 1986. 88p.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: Agroecologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças. 3ªed. **Revista e Ampliada.** Viçosa: UFV, 2009. 421p.

FONSECA, P. R. B.; BERTONCELLO, T. F.; RIBEIRO, J. F.; FERNANDES, M. G.; DEGRANDE, P. R. Seletividade de inseticidas aos inimigos naturais ocorrentes sobre o solo cultivado com algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.38, n.4, p.304-309, 2008.

FRANÇA, S. de S. **1º Ciclo de Seleção Massal na População PM1 de Melão (*Cucumis melo* L.).** Alagoas: 2011. Trabalho de Conclusão. Universidade Federal de Alagoas. 2011.

FREITAS, B. M. As abelhas e o Aumento da Produção Agrícola. In: CONGRESSO NORDESTE DE PRODUÇÃO ANIMAL, 1., 1998, Fortaleza, **Anais...**Fortaleza. p.385-389,1998.

FREITAS, B.M. **Polinizadores e Polinização: O Valor Econômico da Conservação.** Disponível em:<[http://www.reacao.com.br/programa\\_sbpc57ra/sbpccontrole/textos/brenofreitas.htm](http://www.reacao.com.br/programa_sbpc57ra/sbpccontrole/textos/brenofreitas.htm)> Acesso em: 20 de Janeiro de 2015.

GALLAI, N.; SALLES, J. M.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B. Economic variation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. **Ecological Economics**, Hanover, v.68, n.3, p.810-821, 2009.

GALLO, D. O.; NAKANO, O.; SILVERA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola.** Piracicaba, FEALQ, 2002. 920p.

GAMITO, L. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. Visitantes Florais e Produção de Frutos em Cultura de Laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v.28, n.4, p. 483-488, 2006.

GODFRAY, H. C. J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, L. M.; HAILS, R. S.; PETROKOFISKY, G.; POTTS, S. G.; RAINE, N. E.; VANBERGEN, A. J.; MCLEAN, A. R. A Restatement of the Natural Science Evidence Base Concerning Neonicotinoid Insecticides and Insects Pollinators. **Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences**, 281(1786), 2014.

GODOY, M. S.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, B. F.; LASMAR, O. Seletividade fisiológica de inseticidas em duas espécies de crisopídeos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.11, p.1253-1258, 2010.

GONÇALVES, L. S. Africanização nas Américas, Impacto e Perspectivas de Aproveitamento do Material Genético. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, Candelária, RS. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 1994. p.35-41.

GRANJEIRO, L. C.; CECÍLIO FILHO, A. B.; BRAZ, L. T.; GONÇALVES, F. C. **Cultivo de Melão Amarelo**. Jaboticabal: Cecílio Filho, A. B. 2002.

GIBBONS, D.; MORRISSEY, C.; MINEAU, P. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. **Environmental Science and Pollution Research**. v.22, p.103-118. 2015.

GUIMARÃES, J. A. **Recomendações para o Manejo das Principais Pragas do Meloeiro na Região do Semiárido Nordestino**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. 9p. (Circular Técnica).

HILL, T. A.; FOSTER, R. E. Effect of Insecticides on the *Diamondback moth* (Lepidoptera: Plutellidae) and its Parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.93, n.3, p.763-768, 2000.

HOOPER, D. U.; CHAPIN, F. S. ; EWEL, J. J.; HECTOR, A.; INCHAUSTI, P.; LAVOREL, S.; LAWTON J. H.; LODGE, D. M.; LOREAU, M.; NAEEM, S.; SCHMID, B.; SETAL. A. H.; SYMSTAD, A. J.; VANDERMEER, J.; WARDLE, D.A. Effects of Biodiversity on Ecosystem Functioning: A Consensus of Current Knowledge. **Ecological Monographs**, v.75, p.3-35, 2005.

IWASA, T.; MOTOYAMA, N.; AMBROSE, J. T.; ROE, M. R. Mechanism for the Differential Toxicity of Neonicotinoid Insecticides in the Hooney Bee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, Oxford v.23, n.5, p.371-378, mai., 2004.

JACKSON, J. E. Flowers and Fruits. In: JACKSON, J. E (Ed.). **Biology of Apples and Pears**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. p.268-340.

JOHNSON, R. M ; DAHLGREN, L.; SIEGFRIED, B. D. ; ELLIS, M. D.; RAINE, N. E. Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*). **PlosOne**, São Francisco/EUA, v.8, n.1: e54092doi:10.1371/ journal.pone.0054092. 2013.

KATO, E. C. **Polinização em Melão (*Cucumis melo* L.) no nordeste (campo aberto) e Sul (estufa) do Brasil, testando atrativo para *Apis mellifera***. Jaboticabal, 82f. 1997. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista. Paulista, SP. 1997.

KEVAN, P. G. Pollinators as Bioindicators of the State of the Environment: Species, Activity and Diversity. **Agriculture, Ecosystems and Environment, Amsterdam**, v.74, n.1/3, p.373-393, 1999.

KREMEN, C.; WILLIAMS, N. M.; THORP, R. W. Crop Pollination from Native Bees at Risk from Agricultural Intensification. **PNAS**, Baltimore, v.99, p.16812-16816, 2002.

- KLEINERT, A. M. P.; RAMALHO, M.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; RIBEIRO, M. F.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Bioecologia e nutrição de insetos – Base para o manejo integrado de pragas: **Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini)**. Disponível em: < [http://myrtus.uspnet.usp.br/bioabelha/images/pdfs/projeto1/2009\\_kleinheart\\_et\\_all.pdf](http://myrtus.uspnet.usp.br/bioabelha/images/pdfs/projeto1/2009_kleinheart_et_all.pdf) > Acesso em: 05 de maio de 2015.
- KRUPKE, C. H.; HUNT, G. J.; EITZER, B. D.; ANDINO G.; GIVEN, K. Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields. **PLoS ONE**, São Francisco/EUA, v.7(1): e29268. doi:10.1371/journal.pone.0029268. 2012.
- LAURINO, D.; PORPORATO, M.; PATETTA, A.; MANINO, A. Toxicity of Neonicotinoid Insecticides to Honey Bees: Laboratory Tests. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v.64, n.8, p.107-113, mar., 2011.
- LEITE, E. M. A.; AMORIM, L. C. A. **Toxicologia Geral**. Disponível em: < [http://www.geocities.ws/farmaserver/toxicologia/apostila\\_toxicologia\\_geral\\_5\\_periodo.pdf](http://www.geocities.ws/farmaserver/toxicologia/apostila_toxicologia_geral_5_periodo.pdf) > Acesso em: 05 de maio de 2015.
- LEMASSON, M. Intérêt de l'abeille mellifère (*Apis mellifera*) dans la pollinisation de cultures em serre de cornichon (*Cucumis sativus*), de melon (*Cucumis melo*) et de tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Revue de l'Agriculture**, Bruxelles, v.40, p.915-924, 1987.
- LESTER, G. Melon (*Cucumis melo* L.) fruit nutritional quality and health functionality. **HortTech**, v.7, n.3, p.222-227, 1997.
- LIMA, A. C. C.; COSTA, E. M.; ARAUJO, E. L.; MOLINA-RUGAMA, A. J.; GODOY, M. S. Diagnóstico sobre o uso de MIP nas principais áreas produtoras de melão dos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará. **Revista Agroambiente**, Boa Vista, v.6, n.2, p.172-178, mai., 2012
- LOPES, H. S. S.; MEDEIROS, M. G.; SILVA, J. R.; MEDEIROS JÚNIOR, F. A.; SANTOS, M. N.; BATISTA, R. O. Biomassa microbiana e matéria orgânica em solo de Caatinga, cultivado com melão na Chapada do Apodi, Ceará. **Revista Ceres**, Viçosa, v.59, n.4, p.565-570, ago., 2012
- MALERBO-SOUZA, D. T.; COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. Atrativo para as abelhas *Apis mellifera* e polinização em café (*Coffea arabica* L.). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.40, p.272-278, 2003.
- MALASPINA, O.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. Cell Makers for Ecotoxicological Studies in Target Organs of Bees. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, São Paulo, v.23, n.3/4, p.303-309, 2006.
- MALERBO-SOUZA, D. T.; HALAK, A. L. Agentes Polinizadores e Produção de Grãos em Cultura de Café Arábica cv. “Catuaí Vermelho”. **Científica**, Jaboticabal, SP, v.40, n.1, p.1–11, 2012.
- MARACAJÁ, P. B.; MALASPINA, O.; DIAMANTINO, I. M.; SOUZA, T. F.; MOURA, A. N. Efeito da Faveleira (*Cnidioscolus phyllacanthus* Pax e Hoff) Sobre a longevidade de

abelhas operárias de *Apis mellifera* em condições controladas. In: WORKSHOP DE ECOTOXICOLOGIA, 2006 **Anais...** Rio Claro – SP, 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

McGREGOR, S. E. **Insect Pollination of Cultivated Crop Plants**. Washington (DC): United States Department of Agricultural Research Service, 1976, 496p.

MENEZES, J. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MAIA, C. E.; ANDRADE, G. G.; ALMEIDA, J. H. S.; VIANA, F. M. P. **Melão: Pós-Colheita. Características do Melão para Exportação**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. (Frutas do Brasil, 10).

MEDRZYCKI, P.; MONTANARI, R.; BORTOLOTTI, L.; SABATINI, A. G.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of Imidacloprid Administered in Sub-Lethal Doses on Honey Bee Behaviour. Laboratory Tests. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v.56, n.1, p.59-62, mar., 2003.

MIRANDA, N. O.; OLIVEIRA, T. S.; LEVIEN, S. L. A.; SOUZA, E. R. Variabilidade Espacial da Qualidade de Frutos de Melão em Áreas Fertirrigadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.242-249, 2005.

MONCHARMONT, F. X. D; DECOURTYE, A; HANTIER, C. H.; PONS, O.; PHAM-DELEGUE, M. Statistical analysis of honey bee survival after chronic exposure to insecticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.22, p.3088-3094, 2003.

MUSSEN, E. C.; LOPEZ, J. E.; PENG, C. Y. S. Effects of selected fungicides on growth and development of larval honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v.33, n.5, p.1151-1154, 2004.

NASCIMENTO, W. M.; GOMES, E. M. L.; BATISTA, E. A.; FREITAS, R. A. Utilização de Agentes Polinizadores na Produção de Sementes de Cenoura e Pimenta Doce em Cultivo Protegido. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.3, p.494-498, 2012.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; ELBERT, A.; JESCKE, P.; TIETJEN, K. Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides. In: Ishaaya, I. **Biochemical sites in Insecticide action and Resistance**. New York, p. 77-105. Jan., 2001a.

NAUEN, R; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SCHMUCK, R. Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Pest Management Science**, West Sussex, v.57, p.577-586, jul. 2001b.

NAUEN, R. Thiametoxam is neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.76, n2, p.55-69, 2003.

NOMINATO, F. C. **Estudo da ação do inseticida Tiametoxam na sobrevivência e no comportamento de operárias de *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) em**

**diferentes idades.** 2012. 43 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2012.

OLIVEIRA, V. R. Produção de Sementes de Cebola. In: CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE HORTALIÇAS, 5., 2005, Brasília. **Palestras...** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005 (CDROM).

OLIVEIRA, R. A.; ROAT, T. C.; CARVALHO, S. M.; MALASPINA, O. Side-effects of Thiametoxam on the Brain and Midgut of the Africanized Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, Jackson, v.29, n.10, p.1122–1133, Jan., 2013.

OLIVEIRA, E. E. Receptores Nicotínicos como Sítio-Alvo de ação de Inseticidas: Atualidades e Perspectivas para o Controle de Mosca-Branca. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. 1. Goiania – GO. **Anais...** Goiânia – GO, 2014.

PALMER, M. J.; MOFFAT, C.; SARANZEWA, N.; HARVEY, J.; WRIGHT, G. A.; CONNOLLY, C. N. Cholinergic Pesticides Cause Mushroom Body Neuronal Inactivation in Honey Bees. **Nature Communications**. Londres, v.4, n.4 p.1634-1642. mar., 2013.

PASA, M. S.; CASTRO, C. M.; SILVA, C. P. Recursos Genéticos da Macieira. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.18 n. 1-4, p. 44-53, janeiro e março, 2012.

PERES, A. J. A. Eficiência de inseticidas em sugadores e influência aos inimigos naturais e pragas não alvo na cultura do algodão em Cassilândia, MS. **Revista Agrarian**. v.6, n.21, p.218-224, 2013.

PEREIRA, A. M. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas.** 2010. 124f. Tese de doutorado em Ciências Biológicas- Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

PROCTOR, M.; YEO, P.; LACK, A. **The Natural History of Pollination.** Oregon: Timber Press, 1996, 479p.

PIMENTEL, D.; BURGESS, M. Small amounts of Pesticides Reaching Target Insects. **Environment, Development and Sustainability**, v.14, p.1–2, 2012.

PIMENTEL, D. Amounts of Pesticides Reaching Target Pests: Environmental Impacts and Ethics. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v.8, p.17–29, 1995.

PORTO FILHO, F. Q.; MEDEIROS, J. F.; GHEYI, H. R.; MATOS, J. A.; SOUZA, E. R.; SOUSA NETO, E. R. Crescimento do Meloeiro Irrigado com Águas de Diferentes Salinidades. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.334-341, 2006.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>. Acesso em: 2013.

REETZ, E. R.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; DRUM, M. **Anuário Brasileiro de Fruticultura 2014.** Santa Cruz do Sul, Editora Gazeta. 2015. 104p.

RICHARDS, A. J. Does Low Biodiversity Resulting From Modern Agricultural Practice affect Crop Pollination and Yield? **Annals of Botany**, Oxford, v.88, p.165-172, 2001.

RIBEIRO, M. F. **Polinização do Meloeiro (*Cucumis melo*)**. Disponível em <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/938712/1/Marcia.pdf>> Acesso em: 12 de março 2015.

RIPPER, W. E. Effect of Pesticides on Balance of Arthropod Populations. **Annual Reviews Entomology**, v.1, p.403-438,1956.

ROCHA, J. S. **Apicultura, Manual Técnico 05**. Programa Rio Rural, Niterói – RJ. 2008. 27f.

ROCHA M. C.; GONÇALVES, L. S. A.; CORRÊA, F. M.; SILVA, R. R. S. L.; ABOUD, A. C. S.; CARMO, M. G. F. Descritores Quantitativos na Determinação da Divergência Genética entre Acessos de Tomateiro do Grupo Cereja. **Ciência Rural**, v.39, p.664-670, 2009.

ROSSI, C. A. **Efeitos de doses subletais do imidaclopride no cérebro, ventrículo e túbulo de Malpighi de *Apis mellifera* africanizada**. 2010. 101f. Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

SANDROK, C.; TANADINI, M.; TANADINI, L. G.; FAUSER-MISLIN, A.; POTTS, S. G.; NEUMANN, P. Impact of Chronic Neonicotinoid Exposure on Honey Bee Colony Performance and Queen Supersedure. **PloS One**, São Francisco/EUA. v.9(8), p. e103592, 2014.

SANFORD, M.T. **Pollination of citrus by honey bees**. Florida: University of Florida, Cooperative of Extension Service, 2003. 8p.

SCHMUCK, R; NAUEN, R; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U. Effects of imidacloprid and common plant metabolites of imidacloprid in the honeybee: toxicological and biochemical considerations. **Bulletin of Insectology**, Bologna v.56, n.1, p. 27-34, 2003.

SCHONS, M. L.; MIORIN V. M. F. Uso da Terra no Espaço Rural do Município de Campina das Missões, RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, p.1182-1185, 2007.

SGRILO, R.B. A Distribuição de Weibull como Modelo de Sobrevivência de Insetos. **Ecossistema**, v.7, p.9-13, 1982.

SCHNEIDER, C. W.; TAUTZ, J.; GRUNEWALD, B.; FUCHS, S. RFID Tracking of Sublethal Effects of Two Neonicotinoid Insecticides on the Foraging Behavior of *Apis mellifera*. **PLoS ONE**, São Francisco/EUA, v.7, n.1:e30023. 2012.

SHIPP, J. L.; WHITFIELD, G. H.; PAPADOPOULOS, A. P. Effectiveness of the Bumble bee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a Pollinator of Greenhouse Sweet Pepper. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.57, p.29-39, 1994.

SILVEIRA, A. L.; AMARAL, D. R.; SOUZA, L. N. Avaliação do Controle de Oídio do Meloeiro Rendilhado Utilizando Biofertilizante e Soro de Leite Bovino. **Global Science Technology**, Rio Verde, v.7, n.2, p.8–14, 2014.

SOARES, H. M. **Avaliação dos efeitos do inseticida imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2012. 87 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 2012.

SONODA, S.; IZUMI, Y.; KOHARA, Y.; KOSHIYAMA, Y.; YOSHIDA, H. Effects of Pesticide Practices on Insect Biodiversity in Peach Orchards. **Applied Entomology and Zoology**, Japão, v.46, p.335–342, 2011.

SOUSA, R. M.; AGUIAR, O. S.; FREITAS, B.M.; MARACAJÁ, P. B.; AZEVEDO, A. E. C. Período de Introdução de Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.) para Polinização de Melão Amarelo (*Cucumis melo* L.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, PB, v.9, n.4, p.01-04, 2014.

SOUZA, J. R. **Toxicidade da clotianidina para a abelha africanizada *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae)**. 2015. 139 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

SPANGLER, H. G.; MOFFETT, J. O. Honeybee Visits to Tomato Flowers in Polyethylene Greenhouses. **American Bee Journal**, Philadelphia, v.117, p.580-582, 1977.

STONER, A. et al. Acephate (Orthene): Effects on Honey Bee Queen, Brood and Worker Survival. **American Bee Journal**, v.125, p.448-450, 1985.

THOMPSON, H. M. Behavioral Effects of Pesticides in Bees – Their Potential for Use in Risk Assessment. **Ecotoxicology**, v.12, p.317-330, 2003.

THOMPSON, H. M.; MAUS, C. The Relevance of Sublethal Effects in Honey Bee Testing for Pesticide Risk Assessment. **Pest Management Science**, v.63, p.1058–1061, nov., 2007.

THOMPSON, H. M. Risk Assessment for Honey Bees and Pesticides – Recent Developments and ‘News Issues’. **Pest Management Science**, v.66, n.11, p.1157-1162, 2010.

TODAFRUTA. **Informações Econômicas Sobre o Melão**. 2006. Disponível em:<[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=12148](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=12148)> Acesso em: 02 de março de 2015.

TOME, H. V. V.; MARTINS, G. F.; LIMA, M. A. P.; CAMPOS, L. A. O.; GUEDES, R. N. C. Imidacloprid-Induce Impairment of Mushroom Bodies and Behavior of the Native Stingless Bee *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **PloS One**, v.7, n.6, p. e38406, jun., 2012.

TOMIZAWA, M.; LEE, D. L.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticides: Molecular features conferring selectivity for insect versus mammalian nicotinic receptors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.12, p.6016-6024, out., 2000.

TOMIZAWA, M; CASIDA, J. E. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.48, p.339-364, jun., 2003.

TORRES, A. F. **Toxicidade de inseticidas utilizados na cafeicultura às espécies predadoras *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae)**. 2013. 127 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia) – Universidade Federal de Lavras – Lavras. 2013.

VALDOVINOS-NÚÑEZ, G. R. Comparative Toxicity of Pesticides to Stingless Bess (Hymenoptera: Apidae: Meliponine). **Journal of Economic Entomology**, Gainesville, v.102, n.5, p.1737-1742, 2009.

VIEIRA, S. S.; BOFF, M. I. C.; BUENO, A. F.; GOBBI, A. L.; LOBO, R. V.; BUENO, R. C. O. F. Efeitos dos inseticidas utilizados no controle de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B e sua seletividade aos inimigos naturais na cultura da soja. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1809-1818. 2012.

WARE, G. W. **The Pesticide Book**, Fresno California, 2000, 418p.

WILKINSON, J. D.; BIEVER, K. D.; IGNOFFO, C. M. Contact Toxicity of Some Chemical and Biological Pesticides to Several Insect Parasitoids and Predators. **Entomophaga**, v.20, n.1, p.113-120,1975.

WHITEHORN, P. R.; O'CONNOR, S.; WACKERS, F. L.; Goulson, D. Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. **Science**, Washington v.336, n. 6079, p. 351-352, mar.,2012.

WIESE, H. **Apicultura – Novos Tempos**. 2.ed. Porto Alegre: Agrolivros, 2005. 378p.

WINSTON, M. L. **A biologia da Abelha**. Porto Alegre: Magister, 2003. 276 p.

WITTER, S.; BLOCHTEIN, B. Efeito da Polinização por Abelhas e outros Insetos na Produção de Sementes de Cebola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1399-1407, 2003.