



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE AGRONOMIA**

**TOXICIDADE ORAL DE INSETICIDAS DERIVADOS DO NIM SOBRE A**  
**ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

**ALLYSSON JONHNNY TORRES MENDONÇA**

**POMBAL-PB**

**2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR  
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**ALLYSSON JONHNNY TORRES MENDONÇA**

**TOXICIDADE ORAL DE INSETICIDAS DERIVADOS DO NIM SOBRE A  
ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação de Curso de Agronomia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

**Orientador:** Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa

**Co-Orientador:** Prof. Dr. Marcelo Cleón de Castro Silva

**POMBAL – PB**

**2021**

M539t	<p>Mendonça, Allysson Jonhny Torres.</p> <p>Toxicidade oral de inseticidas derivados do NIM sobre a abelha africanizada <i>Apis mellifera</i> (Hymenoptera: apidae). / Allysson Jonhny Torres Mendonça. - Pombal, 2021.</p> <p>32 f.</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2021.</p> <p>"Orientação: Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa; Coorientação: Prof. Dr. Marcelo Cleón de Castro Silva ."</p> <p>Referências.</p> <p>1. Abelhas. 2. Abelhas africanizadas. 3. Abelhas - inseticida - NIM. 4. Abelhas - inseticida - toxicidade. 5. <i>Azadirachta indica</i>. 6. <i>Apis mellifera</i>. I. Costa, Ewerton Marinho da. II. Silva, Marcelo Cleón de Castro. III. Título.</p> <p>CDU 638.1(043)</p>
-------	--

**ALLYSSON JONHNNY TORRES MENDONÇA**

**TOXICIDADE ORAL DE INSETICIDAS DERIVADOS DO NIM SOBRE A  
ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

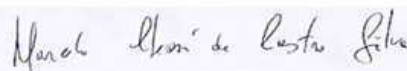
Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Agronomia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

**Aprovado em: 17/05/2021**

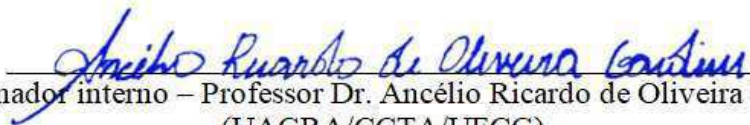
**BANCA EXAMINADORA**



Orientador – Professor Dr. Ewerton Marinho da Costa  
(UAGRA/CCTA/UFCG)



Examinador interno – Professor Dr. Marcelo Cleon de Castro Silva  
(UAGRA/CCTA/UFCG)



Examinador interno – Professor Dr. Ancélio Ricardo de Oliveira Gondim  
(UAGRA/CCTA/UFCG)



Examinadora Externa – Dra. Jacqueline Alves de Medeiros Araújo Costa

**POMBAL – PB  
2021**

## DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho aos meus pais Antônio Mendonça Filho e Francisca Cleide Torres Mendonça, bem como aos meus irmãos, à minha companheira e aos meus avôs Antônio Felix de Mendonça (in memórian) e João Torres de Oliveira (in memórian) por sempre acreditarem na realização deste sonho.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer à Deus, pela oportunidade de conseguir realizar um sonho que é se formar em um curso superior e enfrentar diversos obstáculos da vida. Pelo esforço conquistado até hoje venho por meio dessa monografia ajudar a conservação e a biodiversidade de um inseto polinizador capaz de ajudar o homem a se alimentar.

Aos meus pais Antônio Mendonça Filho e Francisca Cleide Torres Mendonça, pela dedicação, esforço, incentivo e que sempre acreditaram que esse sonho seria possível de se realizar, em ter seu primeiro filho formado em um curso superior venho através deste trabalho mostrar meu agradecimento, muito obrigado.

À toda minha família que sempre acreditou e esteve ao meu lado em todos os momentos mesmo estando longe. Aos meus irmãos Antônio Felix de Mendonça Netto e Alana Ayalla Torres Mendonça minhas sobrinhas Larah Mendonça e Anna Julia e minha cunhada Juliana.

À minha namorada Tamirys Gonçalves por sempre está presente nos momentos bons tantos nos ruins, seu companheirismo foi essencial para que eu pudesse chegar aonde cheguei mesmo sendo difícil a distancia durante alguns dias.

Aos meus avôs agricultores Antonio Mendonça Filho (*in memórian*) e João Torres de Oliveira (*in memórian*) que infelizmente chegaram a falecer ao decorrer de minha formação acadêmica, que sempre me incentivava e dava conselhos.

Muito obrigado aos meus orientadores Ewerton Marinho da Costa e Marcelo Cleón de Castro Silva pela orientação, confiança e paciência como também as contribuições científicas, profissionais e pessoais ao longo destes anos de orientações. Como também pela amizade e conversas fora da instituição de ensino.

Meus agradecimentos a banca examinadora composta pelo professor Dr. Ancélio Ricardo de Oliveira Gondim e a Dra. Jacqueline Alves de Medeiros Araujo Costa em enriquecer o meu trabalho com arguições pertinentes.

Aos meus companheiros de pesquisa do Grupo de estudos em Entomologia da UFCG – CAMPUS Pombal PB: Vitor Rodrigues, Rafael Silva, Micaela Coelho, Kaique Silva, Everaldo Filho, Luiz Antonio, Leandro Clemente, Sávio Matheus, Letícia Pinheiro, Patrícia Matos, Caio Gabriel, Caio Araujo e Rute Lemos. Aos meus fies escudeiros, os irmãos que a Universidade me deu, Franklyn Hugo, Oriel Pereira, Leonardo Mendes e os grandes amigos de moradia em Pombal: Mizael Nabor, Genilson Diniz, Gilberto Torres e Italo Ramos.

À todos os que fazem o corpo de técnicos, professores, porteiros, auxiliares de serviços e demais funcionários da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal, em possibilitar sua estrutura para me formar. **Muito obrigado!**

**MENDONÇA, Allysson Jonhny Torres. TOXICIDADE ORAL DE INSETICIDAS DERIVADOS DO NIM SOBRE A ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE), 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Pombal – PB, 2021.**

## **RESUMO**

A abelha *Apis mellifera* L. é fundamental para polinização de diversas culturas de importância agrícola no mundo. O nim (*Azadirachta indica*) por sua ação inseticida, pesquisadores estudam essa relação com o declínio de polinizadores no ecossistema. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade oral de inseticidas derivados de nim sobre a abelha africanizada *A. mellifera* em condições de laboratório. O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por oito tratamentos Testemunha absoluta – água destilada; Testemunha positiva - Actara<sup>®</sup> (Tiametoxam) (600 g), óleo comercial de nim dose 1 (150 ml) e dose 2 (200 ml), extrato de folhas de nim dose 1 (5 g) e dose 2 (10 g), extrato de sementes de nim dose 1 (5 g) e dose 2 (10 g), contendo 10 repetições, sendo cada unidade experimental formada por 10 abelhas operárias adultas de *A. mellifera*. Dentre os derivados de nim, a maior mortalidade foi observada para as doses do óleo comercial (Azamax), que ocasionou 20,0% e 25,9% de mortalidade para menor e maior dose utilizada, respectivamente. Os extratos das sementes e folhas ocasionaram percentuais de mortalidade inferiores a 15% para todas as doses, sendo estatisticamente iguais e pouco tóxicos sobre as abelhas adultas. Independente da concentração avaliada, os derivados de nim foram pouco tóxicos sobre operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera* via ingestão. Os extratos aquosos de folhas e sementes de nim ocasionaram os menores percentuais de mortalidade das abelhas e apresentaram o TL<sub>50</sub> mais próximo da testemunha absoluta.

**Palavras-chave:** Controle químico, mortalidade, polinizadores, abelha mellifera, *Azadirachta indica*.

MENDONÇA, Allysson Jonhny Torres. ORAL TOXICITY OF NIM DERIVED INSECTICIDES ON AFRICANIZED HONEY BEES. *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE), 2021. Course Conclusion Paper (Agronomy Course) - Federal University of Campina Grande (UFCG), Pombal - PB, 2021.

### ABSTRACT

The Honey bee *Apis mellifera* L. is essential for the pollination of diverse crops of agricultural importance in the world. The neem (*Azadirachta indica*) for its insecticidal effect, researchers are studying this relationship with the decline of pollinators in the ecosystem. Therefore, the objective of the work was to evaluate the oral toxicity of insecticides derived from neem on the Africanized bee *A. mellifera* under laboratory conditions. The bioassay was carried out in a completely randomized design composed of eight treatments Absolute control - distilled water; Positive control - Actara® (Tiametoxam) (600 g), commercial neem oil dose 1 (150 ml) and dose 2 (200 ml), extract of neem leaves dose 1 (5 g) and dose 2 (10 g), neem seed extract dose 1 (5 g) and dose 2 (10 g), containing 10 replicates, each experimental unit being formed by 10 adult worker bees of *A. mellifera*. Among neem derivatives, the highest mortality was observed for the doses of commercial oil (Azamax), which caused 20.0% and 25.9% mortality for the lowest and highest dose used, respectively. The extracts of the seeds and leaves caused mortality rates below 15% for all doses, being statistically equal and little toxic to adult bees. Regardless of the concentration evaluated, the neem derivatives were not very toxic to adult workers of the Africanized bee *A. mellifera* via ingestion. The aqueous extracts of neem leaves and seeds caused the lowest percentages of bee mortality and presented the TL50 closest to the absolute control.

**Keywords:** Chemical control, mortality, pollinators, honey bee, *Azadirachta indica*.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1. Importância da abelha <i>Apis mellifera</i> para agricultura</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2. Controle de insetos praga na agricultura</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3. Toxicidade de inseticidas sobre <i>Apis mellifera</i></b> .....	<b>12</b>
<b>2.4. Nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.) e seus efeitos sobre insetos</b> .....	<b>14</b>
<b>2.4.1 Toxicidade do Nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.) sobre <i>A. mellifera</i></b> .....	<b>15</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1. Análise dos dados</b> .....	<b>18</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1 Resultados</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2 Discussão</b> .....	<b>21</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>22</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos essenciais para polinização e manutenção dos ecossistemas (OLLERTON *et al.*, 2011; MACIEL *et al.*, 2018). Em áreas agrícolas, a polinização realizada pelas abelhas é fundamental para maioria das culturas exploradas economicamente (POTTS *et al.*, 2016), destacando-se a espécie *Apis mellifera* L. como um dos polinizadores mais eficientes (GIANNINI *et al.*, 2015, GARIBALDI *et al.*, 2016; KLEIN *et al.*, 2020).

Durante o período de cultivo, diversas pragas acometem as plantas, sendo necessária a adoção de métodos de controle, dentre os quais se destaca o controle químico. No entanto, tem sido observado nas últimas décadas em diversas regiões do mundo o desaparecimento de polinizadores em áreas agrícolas, sendo o uso abusivo de pesticidas, especialmente os neonicotinoides, uma das principais causas apontadas (FLETCHER; BARNETT 2003; RHODES; SCOTT, 2006; FREITAS *et al.*, 2009; LEONHARDT *et al.*, 2013; GODFRAY *et al.*, 2014).

Nos Estados Unidos houve uma grande perda repentina em colônias de abelhas (*A. mellifera*) sem uma causa apontada foi denominado Colony Collapse Disorder (CCD) (VANENGELSDORP *et al.* 2009; PIRES *et al.* 2016). No Brasil, pesquisa recente apontou que a exposição a pesticidas foi a principal causa para perdas de ninhos e colônias em todas as regiões do país (CASTILHOS *et al.* 2019).

As abelhas podem entrar em contato com inseticidas através da exposição a partículas suspensas no ar e nas partes vegetais e pela ingestão de néctar e pólen contaminados (KLEIN *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2015; CHAM *et al.*, 2017; HEARD *et al.*, 2017). Os impactos negativos ocorrem principalmente sobre as operárias no momento do forrageamento, porém pode afetar toda a colônia (BARGANSKA *et al.*, 2016; CHAM *et al.*, 2017). Portanto, deve ser avaliado cuidadosamente o uso de pesticidas em áreas agrícolas, pois essa estratégia de manejo pode ocasionar alta mortalidade em abelhas (AMARAL *et al.*, 2015).

Uma das alternativas para reduzir a dependência por pesticidas no manejo de pragas é a utilização de inseticidas naturais ou biopesticidas, como os extratos e óleos vegetais. Dentre as espécies vegetais com efeito inseticida, o nim (*Azadirachta indica* A. Juss), cujo principal ingrediente ativo é a Azadiractina, é uma das mais estudadas no mundo (MARTÍNEZ, 2002). Contudo, recentes pesquisas abordam a necessidade de

avaliar os efeitos letais e subletais dos biopesticidas sobre as abelhas (BARBOSA *et al.*, 2015; BERNARDES *et al.*, 2017), haja vista que, alguns trabalhos têm relatado impacto negativo desses produtos sobre polinizadores.

O óleo da semente de nim já foi relatado ocasionando redução na sobrevivência e alimentação de operárias adultas das abelhas *A. mellifera*, *Bombus terrestris* L., *Melipona quadrifasciata* L. e *Partamona hellerie* F. (MELATHOPOULOS *et al.*, 2000; BARBOSA *et al.*, 2015; BERNARDES *et al.*, 2017). Apesar das contribuições citadas acima, pouco se sabe sobre o efeito dos extratos aquosos e diferentes doses do óleo de nim sobre o comportamento e sobrevivência de *A. mellifera*.

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade oral de derivados de nim sobre a abelha africanizada *A. mellifera* em condições de laboratório.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Importância da abelha *Apis mellifera* para agricultura**

Na região tropical cerca de 87% das angiospermas são totalmente ou parcialmente dependentes da polinização entomófila para a frutificação (OLLERTON *et al.* 2011). Dentre os insetos polinizadores destacam-se as abelhas, especialmente a espécie *A. mellifera*. De acordo com Klein *et al.* (2007), *A. mellifera* é um polinizador essencial, pois tem um importante papel econômico e principalmente ecológico que é primordial para a manutenção das plantas nativas, como também para a produtividade agrícola. Cerca de 70% das 124 culturas utilizadas para consumo humano são dependentes dessa polinização (GALLAI *et al.*, 2009; BERNAL *et al.*, 2010; POTTS *et al.*, 2010).

As abelhas operárias campeiras em busca de alimentos ao forragear as plantas, promovem a reprodução cruzadas dos vegetais, melhorando a produção de sementes e frutos, possibilitando novas combinações hereditárias e aumentando também o seu vigor (COUTO; COUTO, 2002), o que torna a polinização um processo fundamental para perpetuação das espécies vegetais (CHAMBÓ *et al.*, 2010). O processo de polinização é um serviço que pode trazer enormes benefícios para a produção agrícola, podendo ser

integrado nas práticas de manejo das culturas, desde que seja introduzido após avaliação da flora predominante do local e do tipo de plantações exploradas pelo produtor (BARFIELD *et al.*, 2015).

Como exemplos de culturas dependentes da polinização realizada pela abelha *A. mellifera* pode-se citar as cucurbitáceas, citrus, cajueiro, mangueira, maracujazeiro e girassol. Nos cultivos das cucurbitáceas, mangueira e maracujazeiro, por exemplo, que é explorado em extensas áreas na região nordeste do Brasil, a polinização pela *A. mellifera* é essencial (TRINDADE *et al.*, 2004; SOUSA *et al.*, 2009; TSCHOEKE *et al.*, 2011). Dentre as estratégias de manejo das cucurbitáceas está a adição de colméias com abelhas nas áreas de produção, fato que garante uma efetiva polinização e obtenção de frutos (BOMFIM *et al.*, 2013; KLEIN *et al.*, 2020; GARIBALDI *et al.* 2016).

De acordo com Toledo *et al.* (2013), algumas espécies de citrus como por exemplo a laranjeira, apresenta polinização cruzada e é altamente atrativa para as abelhas e outros insetos. A polinização é importante para a cultura porque tende a produzir frutos em maior quantidade e de melhor qualidade. Acreditava-se que a polinização do cajueiro era realizada pelo vento, porém após vários estudos no Nordeste do Brasil foi confirmada que as abelhas têm papel fundamental na polinização desta cultura (FREITAS; BONFIM, 2017). Uma estratégia que possibilita a elevação dos lucros aumentando também o rendimento e renda na produção da castanha, pedúnculo e mel é o cultivo desta cultura associada com a criação de abelhas em locais próximos a plantação (MARTINS *et al.*, 2020; KLEIN *et al.* 2020). Nderitu *et al.* (2008) e Oz *et al.* (2009) encontraram aumento significativo na produção de sementes de girassol com a introdução de abelhas em relação à área sem adição de abelhas.

## **2.2. Controle de insetos praga na agricultura**

O controle químico é o principal método de controle utilizando nas áreas agrícolas, sendo indispensável à adoção desta estratégia para garantir o potencial produtivo e qualidade da produção diante da ocorrência e ataque de insetos pragas (ARIOLI *et al.*, 2004; ANDRADE JUNIOR *et al.*, 2007; MICHEREFF FILHO *et al.*, 2012). O uso de pesticidas tem sido a principal abordagem na proteção de cultivos por décadas e muitos compostos inseticidas com diferentes modos de ação são

comercializados a cada ano (LAMBERTH *et al.* 2013). Dentre os principais ingredientes ativos utilizados na agricultura nacional, podem ser citados: Tiametoxam, Imidacloprido, Acetamiprido, Abamectina, Deltametrina, Ciromazina, Espinosade, Clorantraniliprole, Ciantraniliprole, Espinetoram, bifentrina, alfacipermetrina, beta-ciflutrina, acefato, dinotefuram, fipronil, teflubenzurom, etofenproxi, fenpropatrina e piriproxifem (AGROFIT, 2021).

De acordo com Guedes *et al.* (2016), os pesticidas são geralmente aplicados em concentrações que resultarão em morte rápida de espécies de pragas, deixando resíduos que degradam ao longo do tempo, resultando em exposições subletais.

Contudo, para o controle de insetos praga na agricultura é fundamental a adoção do Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois esse sistema de manejo é constituído por uma junção de métodos de controle (cultural, químico, físico, legislativo e biológico), utilizados de maneira harmoniosa, baseada em análises de custo/benefício e considerando os impactos sobre sociedade e meio ambiente. A utilização correta desse manejo acarretaria uma provável solução de se evitar ou diminuir os efeitos de produtos fitossanitários sintéticos em polinizadores (GALLO *et al.*, 2002; PROKOPY; KOGAN, 2003). Para que esse manejo seja eficiente em cultivos agrícolas os produtos químicos devem apresentar a seletividade a organismos benéficos, minimizando os efeitos adversos que podem afetar a sobrevivência e biologia desses indivíduos (GRAVENA; LARA, 1976; DEGRANDE *et al.*, 2002).

### **2.3. Toxicidade de inseticidas sobre *Apis mellifera***

A utilização de produtos fitossanitários vem se destacando no controle de pragas. Porém, tem sido observado em diversas regiões do mundo o desaparecimento de polinizadores em áreas agrícolas e diversos estudos apontam que esse fenômeno ocorre principalmente devido o uso de inseticidas neonicotinoides. (FLETCHER; BARNETT 2003; RHODES; SCOTT, 2006; FREITAS *et al.*, 2009; LEONHARDT *et al.*, 2013; GODFRAY *et al.*, 2014;). A utilização de produtos fitossanitários está entre as causas mais importantes para o declínio de polinizadores em áreas agrícolas, especialmente nas grandes áreas ocupadas com monocultivos (FLETCHER; BARNETT 2003; FREITAS

*et al.* 2009). Desta forma existe uma grande preocupação em todo o mundo, em especial nas áreas agrícolas, sobre os efeitos dos diferentes inseticidas podem ter sobre os polinizadores (DESNEUX *et al.*, 2007; BARNETT *et al.*, 2007; JOHNSON *et al.*, 2010; PINHEIRO; FREITAS, 2010; BLACQUIERE *et al.*, 2012; DORNELES *et al.*, 2017).

De acordo com Vanengelsdorp *et al.*(2009), houve perdas em grande escala de colônias de abelhas manejadas (*A. mellifera*) nos Estados Unidos. Ainda segundo os autores, na ausência de uma causa conhecida, esta síndrome foi denominada “Colony Collapse Disorder” (CCD), pois a principal característica foi uma perda rápida de abelhas operárias adultas.

Castilhos *et al.* (2019), lançaram em 2014 uma pesquisa online para avaliar os impactos das perdas de abelhas no Brasil (abelhas com ferrão, abelhas sem ferrão e abelhas solitárias). Os autores informaram como resultados que no geral, 19.296 de 37.453 colônias e ninhos foram perdidos (estimado > 1 bilhão de abelhas), sendo as perdas maiores para as abelhas africanizadas (*A. mellifera*), seguidas pela abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula* Latreille. Com base nas informações dos entrevistados, as exposições a pesticidas foram apontadas como a principal causa de perdas de ninhos e colônias. No Estado de São Paulo, que respondeu por 45,7% do total de notificações, neonicotinoides e pesticidas derivados de fipronil estão listados em 55,9% das notificações (fipronil, clotianidina, imidaclopride e tiametoxam são amplamente utilizados em plantações de cana-de-açúcar e laranjais neste estado).

Diante disso, diversas pesquisas sobre toxicidade de pesticidas são realizadas em todo o mundo com o intuito de gerar informações para preservação das abelhas. Iwasa *et al.* (2004), relatam em sua pesquisa a alta toxicidade dos neonicotinoides sobre *A. mellifera*. Rhodes e Scott (2006) destacaram em seu trabalho que os princípios ativos que mais apresentaram periculosidade as abelhas foram: Abamectina, Clorfenapir, Deltametrina e Tiametoxam. Abrol e Andotra (2003) revelaram em seu trabalho que os compostos inseticidas utilizados comumente clorpirifós, óleo de nim, quinalphos e malathion que tiveram uma toxicidade moderada, e o dimetoato e altamente tóxico e o fenvalerato e extremamente tóxico para as abelhas.

Carmo *et al.*, (2017) avaliando a toxicidade de inseticidas sobre *A. mellifera* constataram que bifentrina, espinetoram e clorfenapir proporcionaram alta mortalidade para as abelhas, com taxas de 100%, 100% e 96,67%, respectivamente. Baptista *et al.* (2009) mostraram em sua pesquisa que oespirodiclofeno e tetradifona (acaricidas) e os inseticidas reguladores de crescimento piriproxifem e buprofezina não apresentaram

toxicidade as operárias de *A. mellifera*, diferente do inseticida acefato que apresentou uma toxicidade independentemente da técnica de aplicação.

Gomes *et al.*, (2020) relataram que o inseticida imidaclopride causou mortalidade acima de 90% sobre *A. mellifera*, independente da forma de exposição testadas sendo avaliadas testes de repelência, análise de mortalidade por contato e ingestão e testes de vôo, apresentando elevada persistência de resíduos nas plantas, enquanto o clorantraniliprole apenas prejudicou a capacidade de vôo. Além disso, as abelhas não foram repelidas por esses inseticidas, sugerindo que elas podem coletar alimentos contaminados no campo durante o forrageamento.

Diante disso, a avaliação do impacto dos pesticidas sobre abelha fundamental e de grande importância ambiental e econômica, possibilitando aos produtores um uso correto de produtos fitossanitários no controle de pragas com menor risco à vida desses insetos (WOLFF, 2000). Conseqüentemente, a preocupação com o risco da exposição a pesticidas a espécies de abelhas tem aumentado (GILL *et al.* 2012; JOHNSON *et al.* 2013). É importante ressaltar ainda que, os pesticidas podem causar uma variedade de efeitos subletais, como prejuízos no desenvolvimento, reprodução e comportamento, que podem ser tão prejudiciais quanto o efeito letal para a sobrevivência das colônias (BLACQUIERE *et al.* 2012; BRYDEN *et al.* 2013; SMAGGHE *et al.* 2013). Diante dos riscos potenciais dos pesticidas, um novo desafio está na busca de novos compostos que sejam considerado mais seguro para o meio ambiente (VILLAVERDE *et al.* 2014). Nesse contexto, inseticidas de origem natural, também chamados inseticidas bioracionais ou bioinseticidas, receberam aceitação considerável (CANTRELL *et al.* 2012).

#### **2.4. Efeito inseticida do Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) sobre os insetos**

*Azadirachta indica* A. Juss, conhecida popularmente como Nim, pertence à família Meliaceae, árvore nativa da Índia cultivada para o uso medicinal, e vem se expandido ao longo dos anos no território brasileiro (MARTÍNEZ, 2002), sendo cultivada como ornamental evitando assim exposição solar intensa.

O principal ingrediente ativo desta planta é a azadiractina, encontrada em todas as partes da planta, mas com maior quantidade nas sementes, sendo o principal

composto responsável pelo efeito inseticida (SCHMUTTERER, 1990; MORDUE & NISBET, 2000). A azadiractina é responsável por ocasionar repelência, interrupção do crescimento, esterilidade, anormalidades anatômicas, deterrência alimentar e interferência na metamorfose de insetos (VENZON *et al.* 2007).

Os principais produtos derivados do nim são extrato das folhas, da casca, óleo da semente e pó da semente. O preparo de inseticidas a base de nim pode ser realizado de diversas maneiras, como por exemplo, por meio da trituração das sementes ou frutos frescos, deixando descansar por 12 horas em água. Recomenda-se de modo geral, de 30 a 40 g de sementes ou 40 a 50 g de folhas secas por litro de água (ALVES, 2010).

O uso do nim tem mostrado eficiência em controle de várias pragas como, por exemplo, a lagarta-do-cartucho, pulgão e cochonilha. (VIANA *et al.*, 2006; GON *et al.*, 2014). Mourão *et al.*, (2004) mostram que o óleo de torta de nim foi a que apresentou a maior toxicidade aguda ao ácaro fitofágo *Oligonychus ilicis* McGregor, pois requer menor quantidade de extrato para causar 99% de mortalidade dos ácaros expostos. Bleicher *et al.* (2007) demonstra em sua pesquisa que a azadiractina causou redução na média de ninfas vivas de mosca branca já na menor dose, com nível acima de 80% de eficiência. As quatro maiores doses de azadiractina igualmente afetaram a população de ninfas, com desempenho semelhante ao produto buprofezin, que é utilizado convencionalmente para o controle do inseto no campo.

Gonçalves e Bleicher (2006), concluíram que extratos de sementes de nim quando aplicados via solo, em altas concentrações, controlam o pulgão-preto *Aphis craccivora* Koch em feijão-de-corda. Costa *et al.* (2016), mostraram a mortalidade de larvas de mosca *Liriomyza sativae* Blanchard em meloeiro, utilizando concentrações do extrato aquoso de sementes de nim, destacando-se as concentrações de 15 e 20 g 100 mL<sup>-1</sup>, como as mais eficientes.

#### **2.4.1 Toxicidade do Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) sobre *A. mellifera***

Por sua função com propriedades inseticidas, pesquisadores estudam essa relação com a contribuição no declínio de polinizadores nos ecossistemas (ALVES, 2010). Alguns autores apontam que o nim possui flores atrativas para a *A. mellifera* como também uma espécie de potencial para a produção apícola. Tendo uma fonte de néctar importante para apicultores diferente da fonte de pólen que é de menos



importância (CHAUBAL; KOTMIRE, 1980; ALVES, 2010; MOSSINI; KEMMELMEIRER, 2005; BRITO *et al.*, 2021). Durante o período de escassez de flora, *A. indica* pode contribuir no aumento de área de crias em colônia de *A. mellifera* significativamente nos biomas caatinga e mata litorânea cearense, sendo maior na caatinga o recurso floral (ALVES 2010).

Pesquisas apontam que produtos originados do nim podem interferir na ecdise dos insetos ou até mesmo impedi-la. Dessa forma os jovens são os mais afetados pelos produtos a base do nim (UNAL; UKKUZU, 2009). O nim pode causar também efeitos letais e subletais em larvas e adultos de *A. mellifera* nas concentrações recomendadas para o controle de pragas (XAVIER *et al.*, 2015). De acordo com Alves (2010), produtos derivados a base do nim, produzem efeito repelente em campeiras, toxidez para operárias e mortalidade de larvas sendo aplicado oral ou em forma tópica em alimentos artificiais.

Resultados da pesquisa feita por Alves (2010), com pólen e néctar das flores de nim sobre operárias adultas de *A. mellifera*, mostra que as flores de *A. indica* são tóxicas para adultas de *A. mellifera* quando não se têm disponível outras fontes de alimentos junto com o do nim.

O extrato de sementes do nim apresentou toxicidade em pupas que estavam perto do nascimento em colônias de *A. mellifera*. Por outro lado, em flores tratadas com estes extratos não repeliram as abelhas campeiras mostrando nenhuma sintonia ou comportamento atípico (ALVES, 2010).

De acordo com Gomez *et al.* (2016), determinaram que o efeito do óleo da *A. indica* sobre *A. mellifera* que a mais alta concentração obteve 100% de mortalidade de ovos diferentes quando se submetida a concentrações menores.

Autores mostraram irregularidades nas malformações no desenvolvimento e uma alta mortalidade das crias. O principio ativo do nim bloqueia a síntese de hormônios responsáveis por a metamorfose, sendo as larvas de abelhas as mais sensíveis. (AMARAL *et al.*, 2015; ISMAN, 2006).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia (sala climatizada a  $25 \pm 2$  °C,  $50 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h) da Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias (UAGRA), pertencente ao Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Pombal – PB.

Para realização do trabalho foram utilizadas operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera* provenientes de colônias pertencentes ao apiário da UAGRA/CCTA/UFCG. Os inseticidas a base de nim avaliados foram: extrato das sementes, extrato das folhas e óleo comercial de nim (Azamax<sup>®</sup>). Como testemunha absoluta foi utilizada água destilada e como testemunha positiva o inseticida Actara<sup>®</sup> (Tiametoxam) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Inseticidas a base de nim e respectivas doses (mínima e máxima) que foram avaliados com relação à toxicidade sobre a abelha africanizada *Apis mellifera*. Pombal – PB, 2021.

Tratamentos	Ingrediente Ativo	Dose
Azamax <sup>®</sup>	Azadiractina	150mL/100 L
Azamax <sup>®</sup>	Azadiractina	200 mL/100 L
Extrato de Folhas de nim	Azadiractina	5g e 10 g/ 100 ml
Extrato de Sementes de nim	Azadiractina	5g e 10 g/ 100 ml
Actara <sup>®</sup>	Tiametoxam	0,30 g i. a. L <sup>-1</sup>

Para o preparo dos extratos vegetais, inicialmente foram coletadas folhas e frutos maduros em plantas de nim localizadas ao CCTA/UFCG. Após coleta, os materiais foram transportados ao laboratório para secagem. Para obtenção das sementes foi removida a polpa dos frutos, em seguida foram secas em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 40°C por um período de 48h. Após a secagem, foram trituradas, em um liquidificador até a obtenção do pó respectivamente para cada extrato. As concentrações dos extratos de nim avaliadas foram obtidas a partir das quantidades de 5 e 10 g do pó, tanto para folhas quanto sementes, adicionadas a 100 mL de água destilada, sendo a mistura mantida em repouso por 24 horas, em ambiente escuro, para

extração das substâncias bioativas. Todas as misturas foram filtradas em tecido Voil antes da aplicação (COSTA *et al.*, 2014).

A toxicidade dos inseticidas a base de nim foi avaliada por meio de um bioensaio de ingestão de dieta contaminada (Toxicidade oral), seguindo a metodologia utilizada por Costa *et al.*, (2014), que utilizaram pulverizadores manuais para simular uma aplicação em campo sobre a fonte de alimento. Foram utilizadas como arenas recipientes plásticos (15 cm de diâmetro X 15 cm de altura) com a extremidade parcialmente coberta com tela anti-afídeo e laterais com aberturas de 0,1 cm, para possibilitar a adequada circulação de ar no ambiente. No interior foi adicionada em cada arena pasta Cândia (dieta artificial para abelhas), em recipiente plástico, e um chumaço de algodão embebido em água destilada.

Para o manuseio das abelhas durante a realização do bioensaio, previamente os insetos foram anestesiados por meio da utilização do frio ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto). O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por oito tratamentos [Testemunha absoluta – água destilada; Testemunha positiva - Actara<sup>®</sup> (Tiametoxam), óleo comercial de nim dose 1 (150 ml/ 100 L), óleo comercial de nim dose 2 (150 ml/ 100 L), extrato de folhas de nim dose 1 (5 g/ 100 ml), extrato de folhas de nim dose 2 (10 g/ 100 ml), extrato de sementes de nim dose 1 (5 g/ 100 ml) e extrato de sementes de nim dose 2 (5 g/ 100 ml)] e 10 repetições, sendo cada unidade experimental formada por 10 abelhas adultas. Ressalta-se que o bioensaio foi repetido para aumentar a confiabilidade das informações.

Foram avaliadas a mortalidade e o comportamento (prostração, tremores, paralisia, redução de alimentação etc.) das abelhas a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24, 36h e 48h após o início da exposição aos tratamentos. Foram registradas como mortas às abelhas que não responderem a estímulos mecânicos (toques no corpo das abelhas, em cada período de avaliação, com um pincel fino).

### **3.1. Análise dos dados**

Para os dados de sobrevivência dos adultos foi utilizado o pacote Survival (THERNEAU; LUMLEY, 2010) do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), sendo os dados submetidos à análise de distribuição de Weibull. Os tratamentos com efeitos semelhantes (toxicidade e velocidade de mortalidade) foram agrupados

usando contrastes. O tempo letal mediano (TL<sub>50</sub>) também foi calculado para cada grupo formado. A porcentagem de mortalidade foi calculada para cada tratamento e corrigida por meio da equação de Abbott (ABBOTT, 1925), sendo em seguida aplicado o teste não paramétrico de Kruskal – Wallis ao nível de 5% de significância também por meio do software R (R Development Core Team, 2011).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Resultados

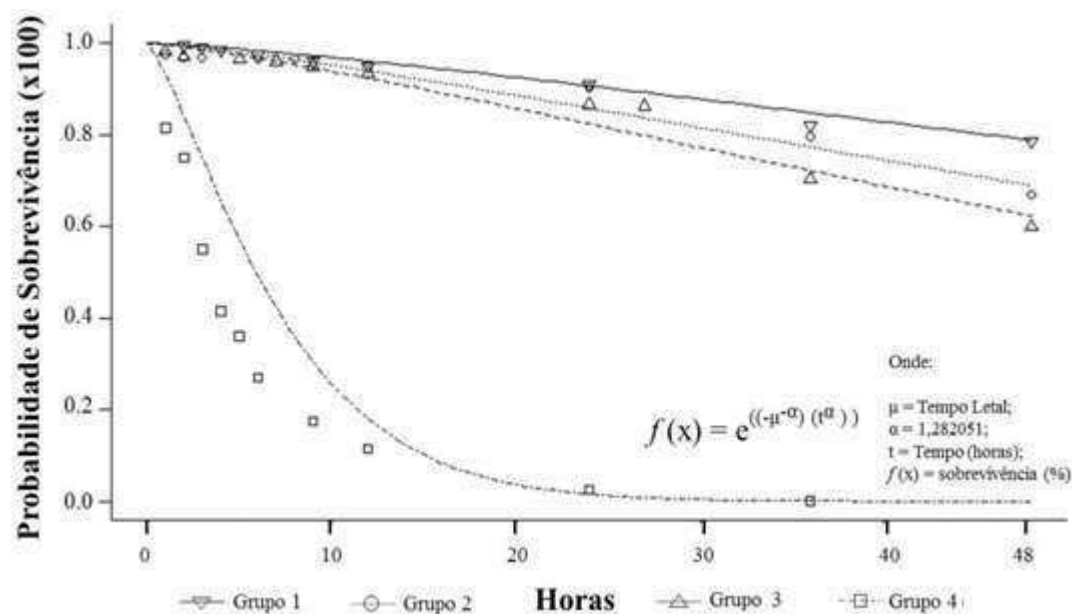
Foi verificado que, independentemente da concentração avaliada, os derivados de nim foram pouco tóxicos a *A. mellifera* via ingestão, quando comparado com o inseticida Tiametoxam, que ocasionou 100% de mortalidade ao final do período de avaliação. Dentre os derivados de nim, a maior mortalidade foi observada para as doses do óleo comercial (Azamax<sup>®</sup>), que ocasionaram 20,0% e 25,9% de mortalidade para menor e maior dose utilizada, respectivamente. Os extratos das sementes e folhas ocasionaram percentuais de mortalidade inferiores a 15% para todas as doses, sendo estatisticamente iguais e pouco tóxicos sobre as abelhas adultas (Tabela 2). Em relação ao comportamento das abelhas, foi observada após ingestão de dieta contaminada com os inseticidas derivados de nim, uma redução na alimentação, especialmente para as duas doses do óleo de nim.

**Tabela 2.** Mortalidade (%) de *Apis mellifera* via ingestão de dieta contaminada com os diferentes inseticidas derivados de nim, Pombal – PB, 2021.

Tratamentos	Dose	Mortalidade (%)*
Testemunha absoluta (água destilada)		0c
Testemunha positiva (Inseticida Tiametoxam)	0,30 g i. a. L <sup>-1</sup>	100a
Óleo comercial de nim (Azamax <sup>®</sup> )	150 ml/100 l	20,0b
Óleo comercial de nim (Azamax <sup>®</sup> )	200 ml/ 100 l	25,9b
Extrato aquoso de sementes de nim	5g/100 ml	14,2b
Extrato aquoso de sementes de nim	10g/100 ml	14,9b
Extrato aquoso de folhas de nim	5g/100 ml	12,9b
Extrato aquoso de folhas de nim	10g/100 ml	13,2b

\*Mortalidade corrigida pela equação de Abbott (1925) e Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Kruskal – Wallis ao nível de 5% de significância.

Com relação à análise de sobrevivência, todos os tratamentos a base de nim apresentaram Tempo letal mediano (TL<sub>50</sub>) superiores a testemunha positiva. O óleo comercial de nim, independente da dose, apresentou TL<sub>50</sub> de 86,22 horas, enquanto os extratos aquosos de semente e folhas de nim, independente da dose, proporcionaram uma TL<sub>50</sub> de 103,75 horas, enquanto que a testemunha positiva apresentou TL<sub>50</sub> de 9,02 horas (Figura 1).



Grupo 1: Testemunha absoluta – Água destilada. Grupo 2: Óleo comercial de nim dose 1 (5 g/ 100 ml) e dose 2 (10 g/ 100 ml); Grupo 3: Extrato aquoso de sementes de nim dose 1 (5 g/ 100 ml) e dose 2 (10 g/ 100 ml), Extrato aquoso de folhas de nim dose 1 (5 g/ 100 ml) e dose 2 (10 g/ 100 ml); Grupo 4: Testemunha positiva – Tiametoxam. TL<sub>50</sub> : Grupo 1: 147,0834 h; Grupo 2: 86,22844 h; Grupo 3: 103,7516 h; Grupo 4: 7,877417 h.

**Figura 1.** Sobrevivência (%) de *A. mellifera* após fornecimento de dieta contaminada com os respectivos tratamentos e tempos letais (TL<sub>50</sub>) em horas, Pombal – PB, 2021.

Dentre os inseticidas derivados de nim, o óleo comercial apresentou os maiores percentuais de mortalidade e o menor TL<sub>50</sub>, enquanto os extratos das folhas e sementes de nim ocasionaram percentuais de mortalidade inferiores a 15% com TL<sub>50</sub> superior a 100 horas, ou seja, foram pouco tóxicos a operárias adultas de *A. mellifera*. Contudo, foi constatada redução do processo de alimentação para todos os tratamentos com nim, com destaque para o óleo comercial. Os resultados demonstram que os inseticidas derivados de nim, independente da dose avaliada no presente trabalho, foram menos nocivos quando comparados à testemunha positiva, o inseticida Tiametoxam.

## 4.2 Discussão

Todos os inseticidas derivados do nim foram menos tóxicos do que a testemunha positiva, o inseticida Tiametoxam, produto que já foi relatado como extremamente tóxico sobre *A. mellifera* (COSTA et. al., 2014).

Foi observada a redução na sobrevivência e alimentação de operárias adultas das abelhas *A. mellifera*. Alguns autores citam que as abelhas *Bombus terrestris*, *Melipona quadrifasciata*, *Partamona hellerie* e *A. mellifera* quando em contato com o óleo de nim também tiveram a mesmo tipo de redução. Sendo recomendado que não fosse aplicado o óleo de nim quando as abelhas estejam visitando efetivamente a área (MELATHOPOULOS et al., 2000; BARBOSA et al., 2015; BERNARDES et al., 2017).

Amaral et al., (2015) relataram que após a ingestão da dieta contaminada a base de nim nenhuma larva completou o seu desenvolvimento, sendo a inibição da alimentação a provável causa da redução na absorção de nutrientes essenciais ao desenvolvimento das abelhas. A fase de larva é considerada mais vulnerável do que a adulta se exposta a uma dieta inadequada (ISMAN, 2006; BRODSCHNEIDER & CRAILSHEIM, 2010; GOMEZ, et al 2016).

Derivados de nim têm ação inseticida principalmente quando ingeridos, desta forma pode interferir significativamente em alguns processos fisiológicos vitais dos insetos, pela ação de substâncias como o tetranortriterpenóide azadiractina, que interfere na síntese hormonal que regula o processo de metamorfose, comprometendo assim o desenvolvimento normal dos insetos (ASCHER, 1993; MORDUE; BLACKWELL, 1993; SCHMUTTERER, 1990;). O modo na qual as substâncias presentes nos derivados de nim podem agir nos insetos são inúmeras, podendo citar: ação repelente (NAUMAN et al.,1994), deterrente (SAXENA; KHAN, 1985; GUPTA; BIRAH, 2001), redução de fecundidade dos insetos, interferência nos hormônios e regulador de crescimento (SCHMUTTERER, 1990; MARTINEZ, 2002).

Nos trabalhos de toxicidade com pólen de nim sobre larvas de abelhas, em condições de laboratório, foi verificado que quanto maior a presença do pólen de *A. indica* na dieta das larvas, maior seria a mortalidade no período larval (ALVES; FREITAS, 2010).

Ainda são escassas as informações sobre os efeitos da toxicidade dos extratos de *A. indica* em abelhas *A. mellifera*. Os resultados obtidos reforçam a necessidade de atenção no momento de aplicação durante o período de floração bem como irão subsidiar novas pesquisas para determinar os efeitos dos extratos em condições de campo.

## 5 CONCLUSÃO

Independente da concentração avaliada, os inseticidas derivados do nim foram pouco tóxicos sobre operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera* via ingestão. Os extratos aquosos de folhas e sementes de nim ocasionaram os menores percentuais de mortalidade das abelhas e apresentaram o TL<sub>50</sub> mais próximo da testemunha absoluta.

## 6 REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.

ABROL, D. P.; ANDOTRA, R. S. Relative Toxicity of Some Insecticides to *Apis mellifera* L. **Journal Asia-Pacific Entomology**. v. 6 n. 2, p. 235 -237, 2003.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em <22TTP://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\_cons/principal\_agrofit\_cons>. Acesso em: 01 mar. 2021.

ALVES, J. E.; FREITAS, B. M.; Efeito do Nim (*Azadirachta indica*) para as Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*). Risco Sobre Polinizadores e Perspectivas de Sua Utilização em Polinização. **EMBRAPA**. 2010.

AMARAL, R. L.; VENZON, M.; FILHO, S. M.; LIMA, M. A. P. Does ingestion of neem-contaminated diet cause mortality of honey bee larvae and foragers?, **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 405-410, 2015.

ANDRADE JUNIOR, A. S.; RODRIGUES, B. H. N.; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A.; MELO, F. B.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S.; DUARTE, R. L. R. A cultura da melancia. **EMPRAPA Meio-Norte**, Coleção Plantar, 2ª Ed, 85 p, 2007.

ARIOLI, C. J. ; BOTTON, M.; CARVALHO, G. A. Controle químico da *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura do pessegueiro. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1695-1700, 2004.

ASCHER, K. R. S. Non conventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, n. 3/4, p. 433-449, 1993.

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**. v.39, n.4, p. 955-961, 2009.

BARFIELD, A., BERGSTROM, J., FERREIRA, S., COVICH, A., DELAPLANE, K. 2015. An Economic Valuation of Biotic Pollination Services in Georgia. **Journal of Economic Entomology**. v. 108, n. 2, p. 388–398, 2015.

BARGANSKA, Z.; SLEBIODA, M.; NAMIESNIK, J. Honey bee and their products: bioindicator soft environmental contamination, **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 46, n.3, p. 235–248, 2016.

BARBOSA, W. F.; MEYER, L. D.; GUEDES, R. N. C.; SMAGGHE, G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). **Ecotoxicology**, v. 24, n.1, p. 130-142, 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**, v. 63, n. 11, p. 1051–1057, 2007.

BERNAL, J.; GARRIDO-BAILÓN, E.; DEL NOZAL, M.J.; GONZÁLEZ-PORTO, A.V.; MARTÍN-HERNÁNDEZ, R.; DIEGO, J. C.; JIMÉNES, J. J.; BERNAL, J. L.; HIGES, M. Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. **Journal of Economic Entomology**, Riverside, v. 103, n. 6, p. 1964–1971, 2010.

BERNARDES, R. C.; TOMÉ, H. V. V.; BARBOSA, W. F.; GUEDES, R. N. C.; LIMA, M. A. P. Azadirachtin-induced antifeeding in Neotropical stingless bees. **Apidologie**, v. 48, n. 3, p. 275-285, 2017.

BLACQUIERE, T.; SMAGGHE, G.; GESTEL, C.A.M.V.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012.

BLEICHER E.; GONÇALVES M. E. C.; SILVA L. Efeito de derivados de nim aplicados por pulverização sobre a mosca-branca em meloeiro. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 110-113, 2007.



BLACQUIERE T.; SMAGGHE G.; VAN GESTEL C. A. M.; MOMMAERTS V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk-assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973–992, 2012.

BOMFIM, I. G. A.; CRUZ, D. O.; FREITAS, B. M.; ARAGÃO, F. A. S. Polinização em melancia com e sem semente. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 53, 2013.

BRYDEN J.; GILL R. J.; MITTON R. A. A.; RAINE N.E.; JANSEN V. A. A. Chronic sublethal stress causes bee colony failure. **Ecology Letters**, v. 16, n. 12, p. 1463–1469. 2013.

BRODSCHNEIDER, R., & CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 278–294, 2010.

BRITO, O. S.; BENDINI, J. N.; ABREU, M. C. Comportamento de forrageamento de *Apis mellifera* L. em *azadirachta indica* a. juss no semiárido do Piauí. **ACTA Apícola Brasileira**, v.9, n. 1, e. 8077, p. 1-4, 2021.

CARMO, D. G. do; MARSARO JÚNIOR, A. L.; COSTA, T. L.; FARIAS, E. de SÁ; RIBEIRO, A. V.; PICANÇO, M. C. Toxicidade de inseticidas comerciais, por ação de contato, para *Apis mellifera*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CANOLA, Passo Fundo. Anais... Brasília, DF. **Embrapa**, v. 1, p. 145-148, 2017.

CANTRELL C. L.; DAYAN F. E.; DUKE S. O. Natural products as sources for new pesticides. **Journal of Natural Products**. v.75, n. 6, p. 1231–1242, 2012.

CASTILHOS, D.; BERGAMO, G. C.; GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Colony losses in Brazil: a 5-year online survey. **Apidologie**, v. 50, n. 263, ed. 3, p. 263–272, 2019.

CHAM, K. de O.; REBELO, R. M.; OLIVEIRA, R. de P.; FERRO, A. A.; VIANASILVA, F. E. de C.; BORGES, L. de O.; SARETTO, C. O. S. D.; TONELLI, C. A. M.; MACEDO, T.C. **Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas**. p. 105, 2017.

CHAUBAL, P. D.; KOTMIRE, S. Y, Floral calendar of bee forage plants at Sagarmal (India). **India Bee Journal, Nainital**, v. 42, n.3, p. 6568, 1980.

CHAMBÓ, E.D.; *et al.* Aplicação de inseticida e seus impactos sobre a visitação de abelhas (*Apis mellifera* L.) no girassol (*Helianthus annuus* L.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.5, n. 1, p.37-42, 2010.

COSTA, E. M.; TORRES, S. B.; R. R.; SILVA, F. G.; ARAUJO, E. L. Extrato aquoso de sementes de nim no controle de *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro. **Revista Ciência Agronômica**. vol.47 no.2, p. 401-406. 2016.

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**, v. 45, n. 1, p. 34-44, 2014.

COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos. Jaboticabal: FUNEP**, ed. 2, p. 191, 2002.

DEGRANDE, P. E., P. R. REIS, G. A. CARVALHO & L. C. BELARMINO. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. p. 75-81 In J. R. P. Parra, P. S. M. Botelho, B. S. Corrêa-Ferreira & J. M. S. Bento. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e predadores**. Manole. p.635, 2002.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 81–106, 2007.

DORNELES, A. L.; VICARI, C. C.; CARVALHO, F. G. de; SATTLER, A.; BLOCHTEIN, B.; MARSARO JÚNIOR, A. L. Toxicidade oral aguda de inseticidas utilizados em Brassicaceae para *Apis mellifera*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CANOLA, v. 1, Passo Fundo. **Anais...** Embrapa, p. 129-135, 2017.

FLETCHER, M.; BARNETT, L. Bee poison incidents in the United Kingdom. **Bulletin of Insectology**, v. 56, n. 1, p. 141-145, 2003.

FREITAS, B. M.; BOMFIM, I.G.A. A necessidade de uma convivência harmônica agricultura com os polinizadores. In: **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE)**. Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar. Brasília, 2017.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; MEDINA, L. M.; KLEINERT, A. M. P.; GALLETTO, L.; NATES-PARRA, G.; QUEZADA-EUÁN, J. J. G. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 332-346, 2009.

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

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; FILHO, E. B.; 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, p. 920, 2002.

GARIBALDI, L. A.; CARCALHEIRO, L. G.; VAISSIERE, B. E.; GEMMILL-HERREN, B.; HIPOLITO, L.; FREITAS, B. M.; NGO, H. T.; AZZU, N.; SAEZ, A.; ASTROM, J.; AN, J.; BLOCHTEIN, B.; BUCHORI, D.; GARCIA, F. J.;...Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. **Science**, v. 351, n. 6271, p. 388-391, 2016.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. THE Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n.3 p. 847-857, 2015.

GILL R. J.; RAMOS-RODRIGUEZ O, RAINE NE Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. **Nature**. v. 491, n. 7422, p. 105–119 U119. 2012.

GODFRAY, H. C. J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, F. M.; HAILS, R. S.; PETROKOFISKY, G.; POTTS, S. G.; RAINE, N. E.; VANDERGEN, A. J.; MCLEAN, A. R. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. Published by the. **Royal Society B**, v. 281, n. 1, 2014.

GON, D. A.; TOSCANO, L. C.; CATALANI, G. C.; DIAS, P. M. **Uso de extrato de nim no controle das pragas na cultura do tomate**. Tecnologia & Ciência Agropecuária. João Pessoa, v.8, n.5, p.67-72, 2014.

GOMES, I. N.; VIEIRA, K. I. C.; GONTIJO, L. M.; RESENDE, H. C. Honey bee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. **Ecotoxicology**, v. 29, n.1, p. 97-107, 2020.

GOMEZ, R. G.; COLINA, G. O.; JIMENEZ, J. A. V.; GALICIA, T. S.; VALDIVIA, C. B. P.; RINCON, J. A. S. Effects of neem (*Azadirachta indica*) on honey bee workers and queens, while applied to control Varroa destructor. **Journal of Apicultural Research**, v. 55, n. 5, p. 413-421, 2016.

GONÇALVES, M. E. C.; BLEICHER, E.; Atividade sistêmica de azadiractina e extratos aquosos de sementes de nim sobre o pulgão-preto em feijão-de-corda. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.2, p.177-181, 2006.

GRAVENA S.; F.M. LARA. Efeito de alguns inseticidas sobre predadores entomófagos em citrus. **Anal Sociedade Entomológica do Brasil**. v. 5, n. 1, p. 39-42.1976.

GUEDES, R. N. C.; SMAGGHE, G.; STARK, J. D.; DESNEUX, N. Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. **Annual Reviews Entomology**, v. 61, n.1, p. 43-62, 2016.

GUPTA, G. P. & BIRAH. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. v.71, n. 8, p. 325, 2001.

HEARD, M. S.; BAAS, J.; DORNE, J. L.; LAHIVE, E.; ROBINSON, A. G.; RORTAIS, A.; SPURGEON, D. J.; SVENDSEN, C.; HESKETH, H. Comparative toxicity of pesticide and environmental contaminants in bees: Are honeybees a useful

proxy for wild bees species? **Science of the Total Environment**, v. 578, n. 1, p. 357–365, 2017.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, n. 1, p.45-66, 2006.

IWASA, T.; MOTOYAMA, N.; AMBROSE, J. T.; ROE, R. M. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. **Crop Protection**, v. 23, n. 5, p. 371-378, 2004.

JOHNSON, R. M.; ELLIS, M. D.; MULLIN, C. A.; FRAZIER, M. Pesticides and honey bee toxicity – USA. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 312-331, 2010.

JOHNSON, R. M.; DAHLGREN, L.; SIEGFRIED B. D.; ELLIS M. D.; Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (*Apis mellifera*). **PLoS ONE**, v. 8, e54092, 2013.

KLEIN, A.-M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing glands capes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.**, v. 274, n.1608, p. 303–313, 2007.

KLEIN, A. M.; FREITAS, B. M.; BOMFIM, G. A.; BOREUX, V.; FORNOFF, F.; OLIVEIRA, M. O. A Polinização Agrícola por Insetos no Brasil. Albert-Ludwigs University Freiburg, Nature Conservation and Landscape. **Ecology**. 2020.

LAMBERTH C, JEANMART S, LUKSCH T, PLANT A Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals. **Science**. v. 341, n. 6147, p. 742–746, 2013.

LEONHARDT, S. D.; GALLAI, N.; GARIBALDI, L. A.; KUHLMANN, M.; KLEIN, A. M. Economic gain stability of pollination and bee diversity decrease from southern to northern Europe. **Basic and Applied Ecology**, v. 14, n. 6, p. 461-471, 2013.

MACIEL, F. A. O. Reconhecimento de padrões sazonais em colônias de abelhas *Apis mellifera* via clusterização. **Revista Brasileira de Computação Aplicada**, v.10, n.3, p.74–88, 2018.

MARTINS, A. M. L. B.; SOUSA, J. J.; SANTOS, K. P. P.; BASTOS, E. M.; LIMA, A. S. A importância das abelhas para polinização do cajueiro na localidade Riachão – Itainópolis – PI. **Cadernos de Agroecologia** – ISSN 2236 - 7934 - Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, v. 15, no. 2, 2020.

MARTÍNEZ, S.S. **O nim – Azadirachta indica: natureza, usos múltiplos, produção.** Iapar. p. 142, 2002.

McGREGOR, S. E. Insect pollination of cultivated crop plants. Agricultural Research service. **Agriculture Handbook**. Washington: USDA, 1976.

MELATHOPOULOS, A.P., WINSTON, M.L., WHITTINGTON, R., HIGO, H., LE DOUX, M. Field evaluation of neem and canola oil for the selective control of the honey bee (Hymenoptera: Apidae) mite parasites *Varroaja cobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae). *Journal of Economic Entomology*.v.93, n. 2, p. 559 – 567. 2000.

MICHEREFF FILHO, M.; MOURA, A. P.; GUIMARÃES, J. A.; REYES, C. P.; CARVALHO, A. D. F.; AMARO, G. B.; LOPES, F. J.; LIZ, R. S. Recomendações técnicas para o controle de pragas do pepino.Circular Técnica 109, **Embrapa Hortaliças**, p. 15, 2012.

MOURÃO, S. A.; SILVA, J.C.T.; GUEDES, R. N. C.; VENZON, M.; JHAM, G. N. ; CLAUDINEI L. OLIVEIRA, C. L.; ZANUNCIO, J. C. Seletividade de Extratos de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao Ácaro Predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma) (Acari: Phytoseiidae). *Neotropical Entomology* v. 33, n. 5, p. 613-617,2004.

MORDUE, J.; NISBET, A. J.; Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its Action Against Insects.An. **Sociedade Entomológica do Brasil**.v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, v. 39, n. 11, p. 903-924, 1993

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos usos. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 24, n. 1, p. 139-148, 2005. Disponível em: <[http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/1/LAJOP\\_24\\_1\\_7\\_1\\_3E9IR6431G.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/1/LAJOP_24_1_7_1_3E9IR6431G.pdf)> Acesso em 01 jan. 2021.

NAUMAN, K., CURRIE R.W., ISMAN M.B. Evaluation of the repelente effects of neem pesticides on foraging honeybees and other pollinators. The **Canadian Entomologist**, v.126, n.2, p. 225-230, 1994.

NDERITU, J.; NYAMASYO, G.; KASINA, M.; ORONJE, M. L. Diversity of sunflower pollinators and their effect on seed yield in Makueni District, Eastern Kenya. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 2, p. 271-278, 2008.

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

OZ, M.; KARASU, A.; CAKMAK, I.; GOKSOY, A. T.; TURAN, Z. M. Effects of honeybee (*Apis mellifera*) pollination on seed set in hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.). **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 6, p. 1037-1043, 2009.

PINHEIRO, J. N.; FREITAS, B. M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 266-281, 2010.

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422 – 442, 2016.

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, n. 6, p. 345-353, 2010.

POTTS, S. G., IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., NGO, H. T., BIESMEIJER, J. C., BREEZE, T. D., DICKS, L. V., GARIBALDI, L. A., HILL, R., SETTELE, J. AND VANBERGEN, A. J. Summary for policymakers of the assessment report of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services on pollinators, pollination and food production, **Report**, Bonn, Germany 2016.

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

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. 2011. Disponível em <http://www.r-project.org/> Acesso em 05 jan. 2021.

RHODES, J.; SCOTT, M. Pesticides: a guide to their effects on honey bees. NSW **Department of Primary Industries: Primefacts**. v. 149, n. 1, p. 4, 2006.

SAXENA, R.C.; KHAN, Z.R. electronically recorded disturbances in feeding behavior of *Nephotetiix virescens* (Homoptera: Cicadellidae) on nem oil-treated rice plants, **Journal of Economic Entomology**, V.78, n. 1, p. 222-226, 1985.

SILVA, I. P.; OLIVEIRA, F. A. S.; PEDROZA, H. P.; GADELHA, I. C. N.; MELO M. M.; SOTO-BLANCO, B. Pesticide exposure of honey bees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. **Apidologie**, v. 46, n. 6, p. 703–715, 2015.

SMAGGHE, G.; DEKNOPPER, J.; MEEUS, I.; MOMMAERTS V.; Dietary chlorantraniliprole suppresses reproduction in worker bumblebees. **Pest Management Science**. v. 69, n.1, p. 787–791, 2013.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from neem tree. **Annual Review of Entomology**, v.35, n. 1, p.271-297, 1990.

SOUSA, R. M.; AGUIAR, O. S.; FREITAS, B. M.; NETO, A. A. S.; PEREIRA, T. F. C. Requerimentos de polinização do meloeiro (*Cucumis melo* L.) no município de Acaraú – CE – Brasil. **Revista Caatinga**, v.22, n.1, p.238-242, 2009.

THERNEAU, T.; LUMLEY, T. survival: **Survival analysis, including penalised likelihood. R package version v. 2.** P. 36-2, 2010. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=survival>>. Acesso em: 08 fev. 2021.

TRINDADE, M. S. A.; SOUSA, A. H.; VASCONCELOS, W. E.; FREITAS, R. S.; SILVA, A. M. A.; PEREIRA, D. S.; MARACAJÁ, P. B. Avaliação da polinização e estudo comportamental de *Apis mellifera* L. na cultura do meloeiro em Mossoró, RN. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v.4, n.1, 2004

TSCHOEKE, P. H.; PINTO, I. O.; SILVA, R. J. Polinização da melancia por abelhas. In: VAN ENGELSDORP, D.; MEIXNER, M. D. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and United States and the factors that may affect them. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, n. Suplementar, p. 580–585, 2011.

TOLEDO, V. A. A.; HALAK, A. L.; CHAMBÓ, E. D.; BAITALA, T. V.; COSTA-MAIA, F. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. Polinização por abelhas em laranja (Citrus sinensis L. Osbeck). **Scientia Agraria Paranaensis – SAP**. Mal. Cdo. Rondon, v.12, n.4, out./dez., p.236-246, 2013

UNAL, S.; UKKUZU, E. Larval effects of azadirachtin on the pine processionary moth. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 19, p. 5128-5131, oct. 2009. Disponível em <<http://www.academicjournals.org/AJB>> Acesso em 16 de junho de 2019.

VANENGELSDORP, D.; EVANS, J.D.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B.K.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D.R.; PETTIS, J.S. Colony collapse disorder: a descriptive study. **PlosOne**, v.4, e6481, 2009.

VENZON, M.; ROSADO, M. C.; PALLINI, A.; FIALHO, A.; PEREIRA, C. J.; Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopsis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.5, p.627-631, maio 2007.

VIANA, P. A. ; PRATES, H. T. ; RIBEIRO, P. E. A. ; Uso do Extrato Aquoso de Folhas de NIM para o Controle de Spodoptera frugiperda na Cultura do Milho. **Circular Técnica, Embrapa Milho e Sorgo**, 2006.

VILLAVERDE, J.J.; SEVILLA-MORAN, B.; Pilar Sand; LOPEZ-GOTI, C.; ALONSO-PRADOS, L. Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC). **Pest Management Science**.v. 70, n. 1, p. 2–5, 2014.

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

XAVIER, M. V.;MESSAGE, D.; PIKANÇO, M. C.; CHEDIK, M.; SANTANA JUNIOR, P. A. ; RAMOS, R. S.; MARTINS, J. C. Acute Toxicity and Sublethal Effects of Botanical Insecticides to Honey Bees. **Journal of Insect Science**.v.15, n. 1, p. 137, 2015.