



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

**TOXICIDADE RESIDUAL DE EXTRATOS AQUOSOS DE NIM SOBRE
A ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera***

EMANOELY KAROLINY SANTOS DA SILVA

POMBAL-PB

2022

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

**TOXICIDADE RESIDUAL DE EXTRATOS AQUOSOS DE NIM SOBRE
A ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera***

EMANOELY KAROLINY SANTOS DA SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Curso de Agronomia, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

ORIENTADOR: Prof. D. Sc. EWERTON MARINHO DA COSTA.

POMBAL-PB

Março 2022

S586t Silva, Emanoely Karoliny Santos da.

Toxicidade residual de extratos aquosos de nim sobre a abelha africanizada *Apis mellifera* / Emanoely Karoliny Santos da Silva. – Pombal, 2022.
24 f. il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2022.

“Orientação: Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa.”.
Referências.

1. Toxicidade residual. 2. Abelha africanizada. 3. Declínio de polinizadores. I. Costa, Ewerton Marinho da. II. Título.

CDU 632.95.024 (043)

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

**TOXICIDADE RESIDUAL DE EXTRATOS AQUOSOS DE NIM
SOBRE A ABELHA AFRICANIZADA *Apis mellifera***

EMANOELY KAROLINY SANTOS DA SILVA

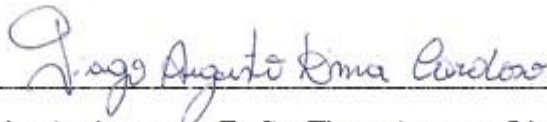
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Curso de Agronomia, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

Aprovado em: **24/03/2022**

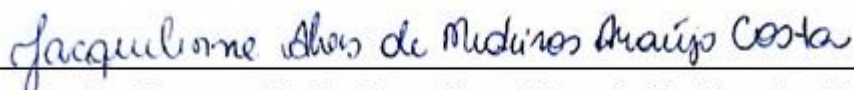
BANCA EXAMINADORA



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



Examinador interno – D. Sc. Tiago Augusto Lima Cardoso
(UAGRA/CCTA/UFCG)



Examinadora Externa – D. Sc. Jacqueline Alves de Medeiros Araújo Costa

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Hailton da Silva e Lindalva Mônica dos Santos Silva, aos meus avôs paternos e maternos (In memoriam), por serem fontes de apoio, incentivo e por sempre acreditarem que esta conquista seria possível.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e força para chegar até aqui, e por permitir que alcançasse essa realização em minha vida.

Aos meus pais José Hailton da Silva e Lindalva Mônica dos Santos Silva por me apoiar, incentivar e estarem sempre presentes em todos os momentos da minha trajetória.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa, pela orientação, atenção e ensinamentos durante a graduação.

A banca examinadora, Prof. Dr. Tiago Augusto Lima Cardoso e a Dra. Jacquelinne Alves de Medeiros Araújo Costa, por todas as contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos colegas do grupo de pesquisa GEENTO, em especial a Vitor Rodrigues, Rafael Pereira, Juliana Coutinho, Mylena Linhares, Carlos Henrique, Caio Araújo e Rute Lemos, pela amizade e auxílio em várias etapas deste trabalho.

As amigas da graduação, Josilene Linhares e Mirna Larissa obrigada pelo apoio.

A Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em especial ao Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) e todo corpo docente que integra o curso de Agronomia.

Agradeço a todos, que contribuíram de maneira direta ou indiretamente para que essa conquista fosse alcançada.

OBRIGADA!

RESUMO

SILVA, E. K. S. **Toxicidade residual de extratos aquosos de nim sobre a abelha africanizada *Apis mellifera***. UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR, UFCG, março de 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. Orientador: Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa.

As abelhas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) são consideradas os principais agentes polinizadores do mundo. Entretanto, o uso desordenado de inseticidas tem contribuído com o declínio destes insetos. Nesse sentido, vem crescendo o número de pesquisas com *Azadirachta indica*, importante espécie de planta sendo utilizada para a síntese de biopesticidas. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade residual do extrato aquoso das folhas e sementes de nim *A. indica* sobre a abelha africanizada *A. mellifera*. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia da Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias (UAGRA), pertencente ao CCTA/UFCG, Pombal-PB. O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por oito tratamentos: Testemunha absoluta - água destilada; Testemunha positiva - Actara® (Tiametoxam) (600g/ha), extrato de folhas de nim dose 1 (5 g/100mL), dose 2 (10 g/100mL) e dose 3 (20 g/100mL), extrato de sementes de nim dose 1 (5 g/mL), dose 2 (10 g/100mL) e dose 3 (20g/100mL), contendo 10 repetições, sendo cada unidade experimental formada por 10 abelhas operárias adultas de *A. mellifera*. Após a aplicação dos tratamentos, foram avaliadas a mortalidade e os efeitos adversos sobre o comportamento das abelhas (prostração, tremores, paralisia, redução de alimentação) a 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24 horas após o início da exposição. A maior mortalidade foi observada para as doses média e máxima do extrato das sementes, que ocasionaram 14% de morte. Já os extratos das folhas ocasionaram baixos níveis de mortalidade para todas as doses, sendo estatisticamente iguais e pouco tóxicos sobre as abelhas adultas. Independente da concentração avaliada, os extratos aquosos das folhas e sementes de nim foram pouco tóxicos a *A. mellifera* sob o modo de exposição residual. Ambos, não influenciaram a mortalidade e o comportamento das abelhas, assim como, não afetaram a capacidade de voo.

Palavras Chaves: Abelha, Declínio, *Azadirachta indica*, Biopesticidas.

ABSTRACT

SILVA, E. K. S. **Residual toxicity of aqueous extracts of denim on the africanized bee *Apis mellifera***. ACADEMIC UNIT OF AGRARIAN SCIENCES, CENTER OF AGROALIMENTAR SCIENCES AND TECHNOLOGY, UFCG, March 2022. Course Completion Work. Advisor: Prof. Dr. Ewerton Marinho da Costa.

Apis mellifera bees (Hymenoptera: Apidae) are considered the world's leading pollinating agents. However, the disordered use of insecticides has contributed to the decline of these insects. In this sense, the number of studies with *Azadirachta indica*, an important plant species being used for the synthesis of biopesticides, has been growing. Therefore, the present study aimed to evaluate the residual toxicity of the aqueous extract of leaves and seeds of nim *A. indica* on the africanized bee *A. mellifera*. The experiment was carried out in the Entomology Laboratory of the Academic Unit of Agrarian Sciences (UAGRA), belonging to CCTA/UFCG, Pombal-PB. The bioassay was carried out in a completely randomized design composed of eight treatments: Absolute control - distilled water; Positive control - Actara® (Tiamethoxam) (600g/ha), denim leaf extract dose 1 (5 g/100mL), dose 2 (10 g/100mL) and dose 3 (20 g/100mL), extract de nim seeds dose 1 (5 g/mL), dose 2 (10 g/100mL) and dose 3 (20g/100mL), containing 10 replicates, each experimental unit consisting of 10 adult worker bees of *A. mellifera*. After the application of the treatments, mortality and adverse effects on bee behavior (prostration, tremors, paralysis, feed reduction) were evaluated at 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 24 hours after the beginning of exposure. The highest mortality was observed for the mean and maximum doses of seed extract, which caused 14% death. Leaf extracts caused low mortality levels for all doses, being statistically equal and little toxic on adult bees. Regardless of the concentration evaluated, the aqueous extracts of leaves and denim seeds were little toxic to *A. mellifera* under the residual exposure mode. Both did not influence the mortality and behavior of the bees, as well as did not affect the flight capacity.

Key Words: Bee, Decline, *Azadirachta indica*, Biopesticides.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS <i>Apis mellifera</i> EM ÁREAS AGRÍCOLAS.....	3
2.2. DESAPARECIMENTO DAS ABELHAS <i>A. mellifera</i> EM ÁREAS AGRÍCOLAS	4
2.3. TOXICIDADE DE INSETICIDAS SOBRE <i>A. mellifera</i>	5
2.4. TOXICIDADE RESIDUAL DE INSETICIDAS Á BASE DE NIM SOBRE <i>A. mellifera</i>.....	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1. ANÁLISE DOS DADOS	11
4. RESULTADOS.....	11
5. DISCUSSÃO	15
6. CONCLUSÕES	16
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

1. INTRODUÇÃO

As abelhas são consideradas os principais agentes polinizadores existentes no mundo, sendo essenciais para manutenção dos ecossistemas e componentes chave da segurança alimentar global (MACIEL et al., 2018; FRAZIER et al., 2015). A abelha *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) é um dos polinizadores de importância agrícola mais utilizados para a polinização de plantas cultivadas, em razão de seu fácil manejo, tamanho de suas colônias e seu perfil generalista na busca de recursos (BUZATO et al., 2012; PIRES et al., 2016).

No entanto, apesar da grande importância quanto aos serviços de polinização que prestam à agricultura e aos ecossistemas terrestres, estudos vem enfatizando a morte massiva e o desaparecimento de abelhas em diversas partes do mundo, especialmente em áreas agrícolas. Castilhos et al. (2019), visando avaliar as perdas de colônias no Brasil, encontraram resultados que demonstram que cerca de 50% das colônias são perdidas anualmente em diferentes regiões do país, estimando a perda de mais de um bilhão de abelhas. Ainda segundo os autores, o uso indiscriminado de inseticidas é indicado como uma das principais causas desse declínio.

Inúmeras causas já foram levantadas a fim de encontrar os motivos da intoxicação e morte das abelhas, destacando-se as mudanças climáticas globais, alteração da paisagem, intensificação agrícola, intoxicação por plantas tóxicas, patógenos e, principalmente, a exposição das abelhas aos produtos fitossanitários, especialmente os inseticidas, em campos de cultivo (MALASPINA et al., 2008; GONZÁLEZ-VARO et al., 2013). A exposição das abelhas aos pesticidas pode ocorrer individualmente de forma direta através do contato corporal (com gotículas de pulverização ou resíduo em plantas) ou indiretamente pelo consumo de resíduos dos mesmos, no néctar e pólen das flores, podendo uma colônia inteira ser afetada (SILVA et al., 2015).

Nesse sentido, na tentativa de reduzir a dependência por pesticidas para o manejo de pragas e, conseqüentemente, minimizar os impactos adversos ao ambiente, vem crescendo o número de pesquisas com produtos naturais com ação inseticida, sendo o nim *Azadirachta indica*, considerada uma das mais importantes e promissora espécie de planta utilizada para a síntese de biopesticidas (SILVA et al., 2009; SHANNAG; CAPINERA; FREIHAT, 2015).

Contudo, estas plantas podem atuar toxicamente sobre organismos benéficos como as abelhas e alguns trabalhos vêm sendo realizados visando avaliar os efeitos de toxicidade de produtos à base de nim sobre *A. mellifera*. Amaral et al. (2015), verificaram redução na taxa de sobrevivência de abelhas expostas via ingestão a diferentes concentrações de um óleo comercial à base de nim, tratadas durante o desenvolvimento larval e após o início do forrageamento.

Gomes et al. (2020), também observaram por meio de bioensaios que via ingestão azadiractina causou mortalidade de 40% das abelhas e prejudicou a capacidade de voo das mesmas. Já Melathopoulos et al. (2000a), relataram o efeito repelente sobre operárias de *A. mellifera* que receberam como alimento um xarope de sacarose contendo menos que 0,01 mg/mL de extrato de nim (nim-aza).

Apesar das contribuições existentes, informações e estudos sobre toxicidade residual de inseticidas como o extrato aquoso das folhas e sementes de nim sobre organismos não-alvo, como os polinizadores, ainda são escassos na literatura nacional e internacional. Tais informações são indispensáveis para que haja a seleção de inseticidas botânicos que auxiliem no manejo das pragas e garantam a preservação e conservação das abelhas em áreas agrícolas. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade residual de extratos aquosos de folhas e sementes de nim sobre a abelha africanizada *A. mellifera* em condições de laboratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS *Apis mellifera* EM ÁREAS AGRÍCOLAS

As abelhas realizam um dos serviços ecossistêmicos mais essenciais aos ambientes naturais e agrícolas, a polinização. Estas, compreendem ao grupo mais importante de polinizadores, visitando mais de 90% dos 107 principais tipos de culturas globais, sendo a abelha africanizada *A. mellifera* a espécie mais amplamente utilizada no mundo para suplementar a polinização em áreas agrícolas, pois apresenta manejo bem conhecido e abundância (KLEIN et al., 2007; BPBES, 2019).

Aproximadamente 75% das espécies de plantas existentes no mundo dependem da polinização (FREITAS; PINHEIRO, 2010). Giannini et al. (2015), avaliando a dependência das culturas agrícolas por polinizadores e o valor econômico da polinização no Brasil, concluíram que quase um terço das culturas analisadas apresentam uma dependência grande ou essencial por polinizadores para a produção satisfatória de frutos e sementes, estimando uma contribuição econômica de aproximadamente US\$ 12 bilhões por ano. Dada essa dependência, a polinização confere-se como um importante mecanismo ecológico frente aos enormes serviços ambientais que prestam (COSTA; OLIVEIRA, 2013).

O aumento da qualidade de frutos e, conseqüentemente, aumento no valor econômico da produção agrícola também é relatado por outros autores. Klatt et al. (2013), analisando a influência da polinização em frutos de morango, identificaram melhoria da qualidade, quantidade e valor de mercado dos frutos, os quais foram mais pesados e mais firmes, apresentaram menos malformações e atingiram graus comerciais mais elevados. Garratt et al. (2014), semelhantemente, verificaram que a polinização não afeta apenas a quantidade da produção de maçãs, mas também a qualidade, influenciando o tamanho e a forma das mesmas.

No cultivo do meloeiro, a presença de abelhas no período de florescimento é fundamental para garantir a polinização e incrementar a produção de frutos (KIILL et al., 2011). Araújo et al. (2004), trabalhando com polinização e estudo comportamental de *A. mellifera* L. identificaram que na ausência das abelhas na polinização da cultura de melão (*Cucumis melo* L.) ocorreu uma alta incidência de aborto em flores e frutos, concluindo que quase não houve rendimento produtivo da cultura.

Malerbo-Souza et al. (2004), estudando a cultura da laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck, var. Pêra-Rio), concluíram que a flor de laranjeira é altamente atrativa para as abelhas *A. mellifera* e que a polinização realizada pelas mesmas influenciou quantitativamente e

qualitativamente a produção de laranjas. Os frutos cujas flores foram visitadas adequadamente pelas abelhas foram mais pesados, menos ácidos e com maior número de sementes por gomo.

As abelhas através do seu papel na produção de alimentos e da agricultura trazem inúmeros benefícios à sociedade, melhorias nos meios de subsistência, desenvolvimento científico e conservação da diversidade biológica. Além de serem fundamentais para a reprodução sexuada das plantas (IMPERATRIZ-FONSECA, 2004). A polinização realizada por abelhas é uma das melhores alternativas para o aumento da produtividade de diversas culturas agrícolas. Sendo, a carência destes agentes um dos fatores que impede o aumento da produtividade o que torna a introdução de polinizadores suplementares, um importante aliado (D'AVILA; MARCHINI, 2005).

Contudo, enquanto a importância da polinização agrícola vem se tornando cada vez mais evidente, estudos indicam que os polinizadores estão em declínio (FREITAS; SILVA, 2015). Sendo necessário para garantir os serviços de polinização realizados pelas abelhas nas paisagens agrícolas, manejar e conservar os recursos essenciais para sua sobrevivência, bem como, aprender mais sobre os benefícios e serviços trazidos pela diversidade desses polinizadores, e os fatores que afetam o declínio e as atividades dos mesmos. Além de proteger as áreas naturais necessárias para otimizar os serviços desses agentes na agricultura e em outros ecossistemas terrestres (ALVES, 2015; SOUZA et al., 2007).

2.2. DESAPARECIMENTO DAS ABELHAS *A. mellifera* EM ÁREAS AGRÍCOLAS

Há evidências crescentes de declínio de polinizadores em todo o mundo, podendo afetar a apicultura, ecossistemas naturais e sistemas agrícolas comprometendo a produção de culturas importantes, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil (GALLAI et al., 2009; NEUMANN; CARRECK, 2010; RHODES, 2018; IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012). Muitos fatores estão provavelmente envolvidos na causa do declínio de abelhas, agindo individualmente e em interação (POTTS et al., 2010; GOULSON et al., 2015). Entre esses fatores, o uso de pesticidas, doenças e parasitas das abelhas melíferas têm demonstrado desempenhar um papel significativo no aumento da mortalidade e nas perdas de colônias (PEREIRA et al., 2019; GENERSCH, 2010).

Entretanto, a busca incessante por produtividade agrícola também tem colaborado para o uso de procedimentos que afetam diretamente as populações de polinizadores. A perda de habitat é geralmente considerada um dos fatores mais importantes para o declínio das abelhas, podendo considerar-se a modificação da paisagem natural como um dos impactos das atividades

antrópicas mais expressivos (ROSA et al., 2019; BROWN; PAXTON, 2009). Desde 2006, na Europa e na América do Norte, perdas desastrosas de colônias foram relatadas, não possuindo causas prontamente aparentes, porém são atribuídas a um fenômeno denominado Colony Collapse Disorder ou CCD (LE CONTE; ELLIS; RITTER, 2010). Os principais fatores associados à referida síndrome são causados direta ou indiretamente por ações antrópicas (CAIRES; BARCELOS, 2017).

Segundo Vandame e Palacio (2010), declínios semelhantes a este no Brasil, são em consequência de fatores como consumo de plantas tóxicas, morte por fome ou por doenças e principalmente aplicação de inseticidas, com destaque aos neonicotinóides. O Brasil figura entre os principais consumidores mundiais de agrotóxicos e cerca de 30% dos produtos fitossanitários consumidos no país são inseticidas, desses, aproximadamente 40% são considerados como tóxicos para as abelhas (FREITAS; PINHEIRO, 2010; GUAZZELLI, 2009). O uso indiscriminado e irracional de produtos fitossanitários está submetendo os polinizadores a situações de estresses severos, que podem gerar prejuízos econômicos, fato evidenciado por essas constantes quedas da densidade de abelhas nos arredores dos campos agrícolas em várias partes do mundo (NOCELLI et al., 2012).

Uma das consequências mais graves desse desaparecimento se relaciona diretamente a polinização. Não existe nenhum substituto artificial para a polinização capaz de executar de forma tão ágil, eficaz e competente o trabalho de uma abelha. Os efeitos, a longo prazo, do declínio destes insetos, poderão ser extremamente prejudiciais à nossa alimentação, uma vez que as frutas e os produtos agrícolas decrescerão aceleradamente. Assim, o desaparecimento das abelhas ameaça à segurança alimentar mundial (CORBY-HARRIS et al., 2016).

2.3. TOXICIDADE DE INSETICIDAS SOBRE *A. mellifera*

A intensificação agrícola tem aumentado a dependência por pesticidas, incluindo inseticidas, que embora sejam úteis para reduzir os danos às culturas causados por insetos-praga, também podem afetar insetos benéficos como os polinizadores (RAINE, 2018). O aumento no uso de inseticidas é considerado um dos principais fatores implicados no declínio mundial de insetos polinizadores, destacando-se os inseticidas neonicotinóides, conhecidos como a classe de inseticidas mais difundida e de mais rápido crescimento, como tóxicos as abelhas (VANBERGEN; INITIATIVE 2013; BLACQUIERE et al., 2012; ELBERT et al., 2008).

De acordo com Abati et al. (2021), nos últimos 15 anos vem se intensificando o número de pesquisas sobre pesticidas e abelhas, reflexo da crescente preocupação com o impacto destas moléculas sobre os polinizadores (OSBORNE, 2012). Castilhos et al. (2019), objetivando identificar e quantificar compostos presentes em amostras de abelhas aparentemente envenenadas, com ênfase nos inseticidas neonicotinóides e fipronil, identificaram sete neonicotinóides (Acetamiprido, Clotianidina, Dinotefuran, Imidacloprido, Nitenpiram, Tiacloprido, Tiametoxam) e um Fenilpirazol (fipronil) presentes nas amostras em níveis letais ($>LD_{50}$) nesses insetos.

Costa et al. (2014), avaliando a toxicidade de inseticidas utilizados em cultivo de meloeiro sobre *A. mellifera*, identificaram que, independentemente do modo de exposição, os inseticidas Tiametoxam, Abamectina e Clorfenapir destacaram-se como extremamente tóxicos para adultos de *A. mellifera*, dentre nove produtos testados em sua pesquisa.

Roat et al. (2020), ao investigarem os efeitos de tiametoxam no cérebro de *A. mellifera* obtiveram resultados que demonstram que uma concentração subletal de tiametoxam pode prejudicar processos biológicos e importantes vias metabólicas, causando danos ao sistema nervoso das abelhas e que, a longo prazo, podem comprometer a nutrição e a fisiologia dos indivíduos da colônia.

O efeito drástico dos pesticidas em geral e dos inseticidas em particular não se limita à morte de organismos não-alvos, mas está relacionado ao comportamento e funções anormais que eles induzem (BADAWY; NASR; RABEA, 2015). Os pesticidas podem matar as abelhas em doses suficientemente altas (RORTAIS et al., 2005). No entanto, doses de pesticidas que não causam morte imediata costumam ter outros efeitos deletérios e podem interferir nas capacidades cognitivas e no comportamento das abelhas (PACÍFICO DA SILVA et al., 2015).

Análises de risco de pesticidas são necessárias para avaliar tais ameaças potenciais e escolhas sustentáveis devem ser feitas durante a implementação de métodos e produtos de controle de pragas, a fim de aliviar possíveis danos à segurança alimentar, aos serviços ecossistêmicos e à plena funcionalidade de todos os sistemas do meio ambiente (FAIRBROTHER et al., 2014; CHAGNON, 2015). Nesse contexto, uma transição para alternativas amigáveis aos polinizadores é urgentemente necessária e os inseticidas de origem natural, também chamados de bioinseticidas, vem recebendo aceitação considerável (VAN DER SLUIJS et al., 2013; CANTRELL et al., 2012).

2.4. TOXICIDADE RESIDUAL DE INSETICIDAS Á BASE DE NIM SOBRE *A. mellifera*

O debate em curso sobre o papel dos pesticidas no declínio global das populações de abelhas está aumentando a demanda pelo uso de biopesticidas, compostos geralmente considerados menos prejudiciais aos polinizadores (BERNARDES et al., 2017). O nim, *Azadirachta indica* A. Juss. é uma espécie da família Meliaceae, nativa das regiões áridas da Ásia. Conhecido há séculos, nas últimas décadas seu estudo tem se difundido devido às substâncias inseticidas presentes em suas folhas e frutos (VIDIGAL et al., 2007).

A azadiractina é um dos principais compostos bioativos que podem ser obtidos de *A. indica*, encontrado em várias partes da árvore do nim, como sementes, caule, frutos e folhas, contendo nas sementes, os níveis mais altos de sua concentração (FERNANDES et al., 2019). A azadiractina, foi avaliado como o inseticida de origem botânica mais promissor, usado contra mais de 400 espécies de insetos (AHMAD; BAJWA, 2012). São diversos os efeitos destas plantas sobre os insetos, podendo causar repelência, atrasar o crescimento, reduzir a alimentação, a fecundidade, fertilidade e induzir deformidades (SOGLIA et al., 2006; GAHUKAR, 2000).

De acordo com Mossini e Kemmelmeier (2005), três formulações básicas têm sido preconizadas para uso no manejo de pragas, o extrato aquoso, óleo e pó da semente. Podendo ser preparados por trituração das sementes ou frutos frescos, deixando descansar por 12 horas em água, no qual recomenda-se, de modo geral, a utilização de 30 a 40g de sementes ou 40 a 50g de folhas secas por litro de água. Por sua função com propriedades inseticidas, pesquisadores estudam essa relação com a contribuição no declínio de polinizadores nos ecossistemas (ALVES, 2010), tendo em vista que, a segurança destes compostos ainda é bastante questionada.

Segundo Pashte e Patil (2018), vários inseticidas botânicos, que muitas vezes são considerados inofensivos e ambientalmente seguros, podem gerar toxicidade aguda e efeitos subletais nas abelhas. Xavier et al. (2009), objetivando avaliar a toxicidade de inseticidas botânicos sobre *A. mellifera* por meio de bioensaios em condições de laboratório, constataram que o inseticida botânico mais tóxico as abelhas adultas foi o nim, causando mortalidade de aproximadamente 75% após quatro dias de exposição por contato à concentração de 0,2 mL/100mL com aumento da mortalidade em função do tempo de exposição. Melathoupolos et al. (2000b), mostraram que a azadiractina, quando aplicada no campo a intervalos de seis dias, leva a uma considerável redução na área de crias e causa grande mortalidade de rainhas nas colônias.

Apesar de poucas informações relacionadas ao efeito residual do nim sobre *A. mellifera*, é importante ressaltar que em outros modos de exposição, especialmente via ingestão (oral), o

óleo de nim tem causado redução de sobrevivência e efeitos subletais sobre a referida abelha. Amaral et al. (2015), confirmaram a hipótese de que a ingestão de produtos à base de nim como o óleo comercial por *A. mellifera* nas fases adulta e jovem nas concentrações mais altas de 480 mg ia/L e 120 mg ia/L, respectivamente, reduzem a taxa de sobrevivência das abelhas com evidência de alta mortalidade para as larvas tratadas com azadiractina.

De acordo com Xavier et al. (2015), ao avaliarem a toxicidade aguda e os efeitos comportamentais subletais de inseticidas botânicos, entre eles, o óleo de nim em abelhas *A. mellifera*, constataram que além de causar uma toxicidade aguda tanto para operárias adultas quanto para larvas, o inseticida também diminuiu as atividades de locomoção de insetos adultos de *A. mellifera* na concentração de 2,00 ml/L por meio do contato corporal em adultos ou ingestão de dietas larvais contaminadas.

Gomes et al. (2020), em estudo objetivando avaliar a toxicidade de inseticidas sobre *A. mellifera* por meio de bioensaios, relataram que o óleo de nim quando ingerido causou mortalidade de aproximadamente 40% na concentração de 250,00 µL/L, após 24 horas da liberação das abelhas em placas de Petri, concluindo que azadiractina apresenta potencial impacto negativo a estes insetos por esta via de exposição. Além de destacar que azadiractina em bioensaios de contato, causaram efeitos subletais nas abelhas como mudança na habilidade de voo.

Contudo, informações acerca de compostos vegetais com propriedades inseticidas apresentam limitações no que tange a carência de estudos frente o uso destes, destacando-se a falta de dados relacionados à fitotoxicidade, persistência e, principalmente, aos efeitos sobre organismos não-alvo. Sendo importante conhecer a seletividade aos organismos benéficos, dosagem e tempos de aplicação (RODRIGUES; SILVA; CASTRO, 2017). Sendo que os pesticidas naturais não são necessariamente mais seguros simplesmente por não serem sintéticos (MAGKOS et al., 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia (sala climatizada a 25 ± 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), Campus Pombal, Paraíba, Brasil.

Para execução do trabalho foram utilizadas operárias adultas de abelha africanizada *A. mellifera*, provenientes de cinco (05) colmeias instaladas em caixa de madeira do tipo Langstroth, pertencentes ao apiário da UAGRA/CCTA/UFCG.

Os inseticidas a base de nim avaliados foram o extrato aquoso das folhas e extrato aquoso das sementes de nim. Como testemunha absoluta foi utilizada água destilada e como testemunha positiva o inseticida Actara® (Tiametoxam) na dose máxima recomendada pelo fabricante para controle de pragas em meloeiro (Tabela 1).

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

Tratamentos	Ingrediente Ativo	Dose
Extrato aquoso de Folhas de nim	Azadiractina	5g; 10g e 20g/100 ml
Extrato aquoso de Sementes de nim	Azadiractina	5g; 10g e 20g/100 ml
Actara®	Tiametoxam	600 g/ha

Para o preparo dos extratos vegetais, inicialmente foram coletadas folhas e frutos maduros de plantas de nim localizadas no CCTA/UFCG. Após a coleta, os materiais foram transportados ao laboratório, onde realizou-se a remoção da polpa dos frutos para obtenção das sementes. A secagem de folhas e sementes foi realizada em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 40°C por um período de 48h. Após a secagem, folhas e sementes foram trituradas, separadamente, em um liquidificador até a obtenção do pó respectivamente para cada extrato. As concentrações dos extratos de nim avaliados foram obtidas a partir das quantidades de 5, 10 e 20 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., 2016).

Para avaliar a toxicidade residual dos inseticidas, foram produzidas plantas de meloeiro amarelo, cultivar Iracema (SAKATA®), em casa de vegetação do CCTA/UFCG. As plantas foram produzidas e mantidas em vasos (com capacidade de 1 kg) contendo como substrato solo + matéria orgânica (proporção de 2:1), sendo irrigadas duas vezes ao dia. Quando as plantas atingiram o número mínimo de seis folhas definitivas, foram selecionadas 10 plantas para cada tratamento. As plantas foram pulverizadas com os respectivos tratamentos, com

auxílio de um pulverizador manual, simulando uma aplicação dos produtos em campo, seguindo a metodologia utilizada por Costa et al. (2014). Em seguida, logo após a secagem dos produtos, as folhas foram cortadas na altura do pecíolo e colocadas em arenas (recipiente plástico com 15 cm de diâmetro por 15 cm de altura e extremidade parcialmente coberta com tela anti-afídeo e laterais com aberturas de 0,1 cm para possibilitar a adequada circulação de ar no ambiente). Em cada arena foi adicionado no seu interior pasta Cândia (dieta artificial de açúcar refinado + mel) em recipiente plástico e um chumaço de algodão embebido em água destilada. Somente após o referido procedimento, as operárias adultas de *A. mellifera* foram liberadas no interior das arenas.

Para facilitar o manuseio durante a realização do bioensaio, as abelhas foram previamente anestesiadas por meio do uso de frio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 90 segundos). O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por oito tratamentos [Testemunha absoluta - água destilada; Testemunha positiva - Actara® (Tiametoxam), extrato de folhas de nim dose 1 (5 g/100 mL), extrato de folhas de nim dose 2 (10 g/100 mL), extrato de folhas de nim dose 3 (20 g/100 mL), extrato de sementes de nim dose 1 (5 g/100 mL), extrato de sementes de nim dose 2 (10 g/100 mL) e extrato de sementes de nim dose 3 (20 g/100 mL)] e 10 repetições, sendo cada unidade experimental formada por 10 abelhas adultas.

Foram avaliadas a mortalidade e o comportamento (prostração, tremores, paralisia, redução de alimentação etc.) das abelhas a 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24 horas 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).

A avaliação da capacidade de voo das abelhas que sobreviveram após as 24 horas de observação em cada bioensaio foi realizada com auxílio de uma torre de voo, seguindo a metodologia utilizada por Gomes et al. (2020). A torre de voo foi construída com estrutura de madeira ($35 \times 35 \times 115$ cm), aberta em seu interior, e com uma lâmpada fluorescente no topo. Todas as laterais da torre foram cobertas por um plástico transparente, para permitir a visualização perfeita do voo das abelhas. As avaliações ocorreram em uma sala escura, com temperatura média de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $60 \pm 10\%$, onde a única fonte de luz era a lâmpada instalada no topo da torre, com o objetivo de atrair as abelhas por meio do fototropismo positivo, ou seja, estimulando o voo em direção à luz.

Devido ao número de abelhas utilizadas nos bioensaios, foi estabelecido o limite máximo de 100 abelhas (50% do total utilizado na avaliação do efeito letal) para avaliação da capacidade de voo por tratamento. Para os tratamentos em que não foi possível utilizar 100

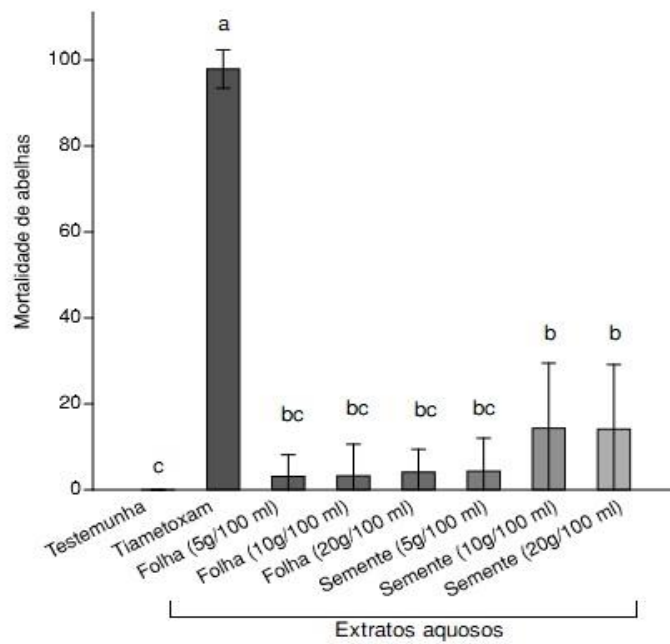
abelhas, foram utilizadas todas as sobreviventes. Cada abelha sobrevivente foi colocada individualmente na base da torre (altura 0 cm), sendo permitido um período de 60 segundos para a conclusão do voo, e a partir daí foi observada a altura final que cada abelha atingiu. A torre de voo apresentou cinco níveis de altura: 0 (base da torre), 1 (de 1 cm a 30 cm de altura), 2 (de 31 cm a 60 cm de altura), 3 (de 61 cm e 90 cm de altura) e 4 (de 91 cm até 115 cm, local onde estava a lâmpada).

3.1. ANÁLISE DOS DADOS

As médias de mortalidade foram corrigidas pela fórmula de Abbott (1925), sendo em seguida aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (1952) ao nível de 5% de significância seguido do teste de Wilcoxon. Os dados de sobrevivência das abelhas foram analisados usando o pacote “survival” (THERNEAU; LUMLEY, 2010) para o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019) e submetidos a uma análise de distribuição Weibull. Os tratamentos com efeitos semelhantes (toxicidade e velocidade de mortalidade) foram agrupados por meio de contrastes. O tempo letal mediano (TL_{50}) também foi calculado para cada grupo. Para a capacidade de voo foi realizada análise descritiva, sendo construídos gráficos para apresentação dos dados observados.

4. RESULTADOS

Foi verificado que, independentemente da concentração avaliada, os extratos aquosos das folhas e sementes de nim foram pouco tóxicos a *A. mellifera* sob exposição por contato residual em folhas de meloeiro, quando comparado com o inseticida Tiametoxam, que ocasionou 100% de mortalidade. Dentre os extratos avaliados, a maior mortalidade foi observada para as doses média e máxima do extrato das sementes, que ocasionaram cerca de 14% de morte. Os extratos das folhas ocasionaram baixos níveis de mortalidade para todas as doses, sendo estatisticamente iguais e pouco tóxicos sobre as abelhas adultas (Figura 1).



*Mortalidade corrigida pela equação de Abbott (1925), sobre as barras, letras diferentes representam diferenças significativas de acordo com o teste de Wilcoxon com nível de significância de 5%.

Figura 1. Mortalidade (%) de *Apis mellifera* após exposição residual aos inseticidas, Pombal-PB, 2022.

Salienta-se que não foi observada nenhuma alteração no comportamento das abelhas expostas aos resíduos do extrato aquoso de folhas e sementes de nim em relação as abelhas do tratamento testemunha absoluta (água destilada).

Com relação à análise de sobrevivência, todos os tratamentos a base de nim apresentaram tempo letal mediano (TL_{50}) superiores a testemunha positiva. O extrato aquoso das folhas, independente da dose, assim como, a dose mínima do extrato aquoso das sementes apresentou TL_{50} de 287,17 horas, enquanto as dosagens média e máxima do extrato das sementes, proporcionaram uma TL_{50} de 119,91 horas, para a testemunha positiva verificou-se um TL_{50} de 3,83 horas (Figura 2).

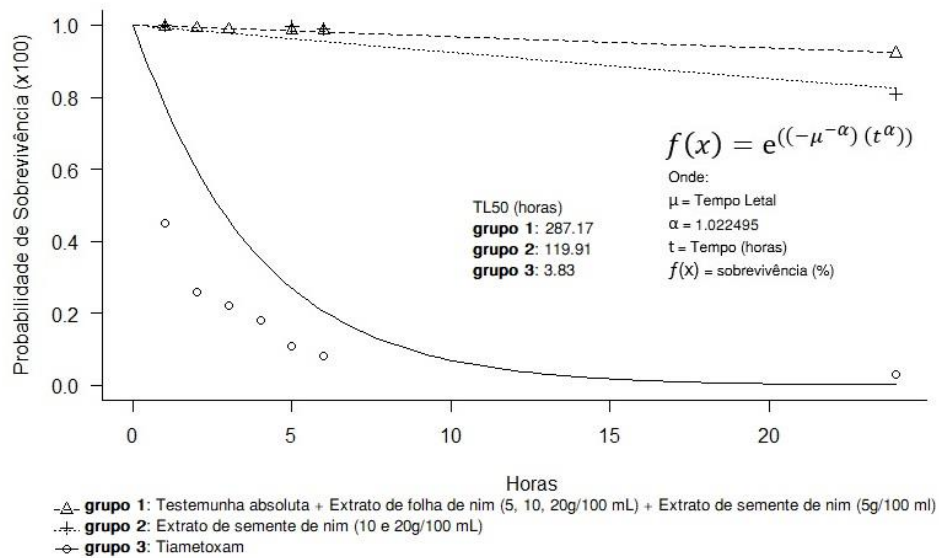


Figura 2. Sobrevivência (%) de *Apis mellifera* e tempos letais medianos (TL₅₀) após exposição residual aos inseticidas, Pombal-PB, 2022.

Dentre os inseticidas à base de nim avaliados, os extratos das sementes nas concentrações média e máxima apresentaram os maiores percentuais de mortalidade e o menor TL₅₀, enquanto todas as doses do extrato das folhas e dose mínima do extrato das sementes ocasionaram baixos percentuais de mortalidade com TL₅₀ superior a 200 horas, ou seja, foram pouco tóxicos a operárias adultas de *A. mellifera*. Os resultados obtidos 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.

Além disso, os extratos de nim não afetaram expressivamente a atividade de voo das abelhas que sobreviveram após as 24 horas de observação, sendo que nas dosagens máximas respectivamente dos extratos das folhas e sementes, mais de 40% das abelhas atingiram altura de voo acima de 91 cm, ou seja, atingiram o nível 4 da torre, local onde se encontrava a lâmpada, não diferindo da testemunha não tratada. 50% variaram a altitude de voo entre 1 e 90 cm e apenas 10% não atingiram altura de voo superior a 0 cm em ambos os tratamentos com os extratos nas concentrações de 20g/100mL (Figuras 3 e 4).

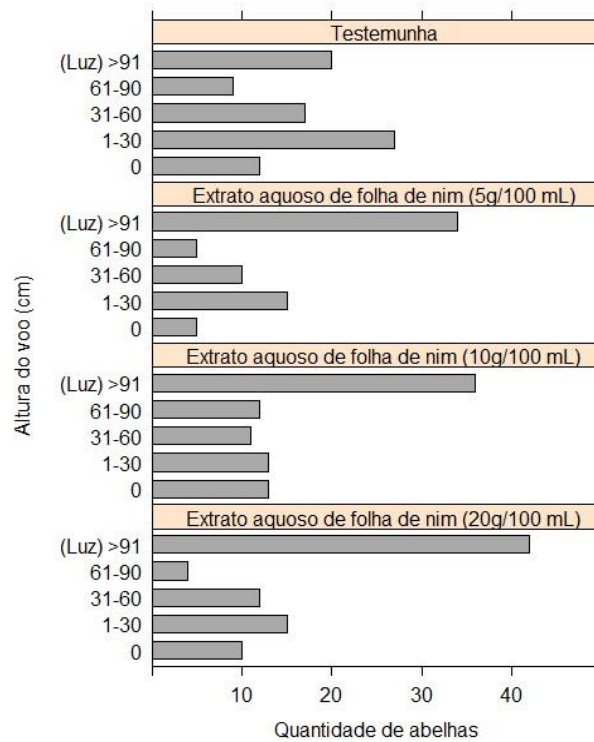


Figura 3. Atividade de voo (%) de *Apis mellifera* após exposição residual ao extrato aquoso de folhas de nim, Pombal-PB, 2022.

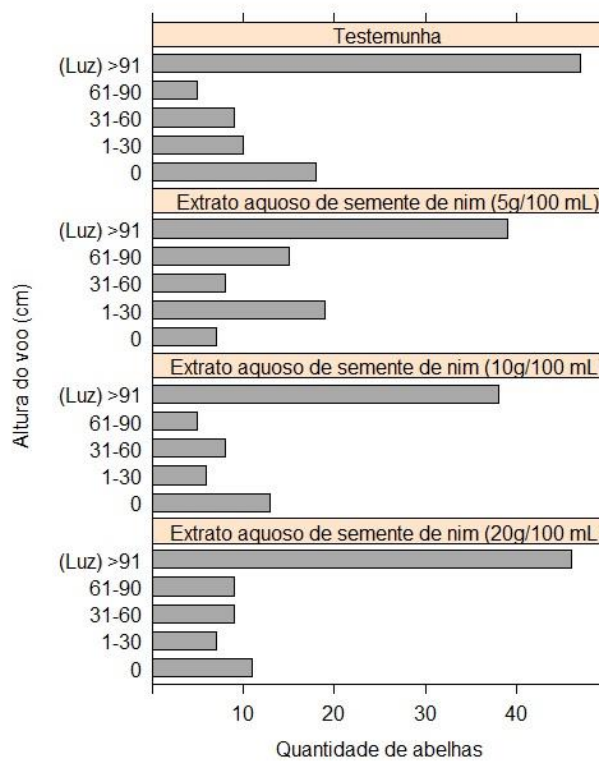


Figura 4. Atividade de voo (%) de *Apis mellifera* após exposição residual ao extrato aquoso de sementes de nim, Pombal-PB, 2022.

5. DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que os extratos das folhas e sementes de nim, apresentaram efeito residual leve em abelhas adultas de *A. mellifera*. Independentemente da dose, a exposição das abelhas aos extratos foi menos nociva quando comparado à testemunha positiva, o inseticida Tiametoxam, o qual apresentou alto percentual de mortalidade.

Entretanto, as concentrações mais altas dos extratos das sementes mostraram-se moderadamente tóxicos sob o modo de exposição. Sabe-se que os efeitos do nim nas abelhas e outros insetos benéficos são dependentes da dose (ABD-ALLAH et al., 2005). Além de que, estão contidas nas sementes as maiores concentrações do principal composto bioativo da *A. indica*. Já o extrato das folhas, foi minimamente tóxico a *A. mellifera*, o que pode ter sido influenciado por fatores como o método de extração com solvente aquoso utilizado neste estudo, apresentando a azadiractina, solubilidade moderada em água ou ainda em virtude de derivados do nim terem ação inseticida principalmente quando ingeridos (FERNANDES et al., 2019; AMARAL et al., 2015).

Informações sobre efeito residual de extratos aquosos sobre abelhas melíferas são escassas. Contudo, a relativa segurança de inseticidas derivados de plantas como *A. indica* como sendo geralmente mais seguros por apresentarem efeitos nocivos leves a moderados sobre organismos benéficos, como as abelhas, já foi relatado por Raguraman e Kannan (2014). Estes autores também destacaram que nenhuma toxicidade residual/persistente de nim ou outros pesticidas botânicos no meio ambiente até então foi relatada.

González-Gómez et al. (2016), avaliando os efeitos do nim com destaque para o óleo de nim em operárias e rainhas de abelhas, enquanto aplicado no controle de *Varroa destructor*, verificaram que o efeito residual do óleo foi de curta duração, após observar ovoposição da rainha em células que haviam sido esvaziadas devido à eliminação dos ovos ou larvas tratadas com óleo de nim. Segundo Schmutterer (1990), o efeito residual de produtos à base de nim é em torno de 5 a 7 dias. Para o autor do ponto de vista ecológico, produtos com tais propriedades não perturbam os ecossistemas.

Os resultados demonstraram ainda pouca ou nenhuma influência sobre o comportamento das abelhas como redução de alimentação e paralisia, durante a exposição aos tratamentos, assim como observou-se para capacidade de voo das abelhas. Dessa forma, os extratos à base de *A. indica* apresentam-se como seguros a estes organismos. O nim também foi relatado como seguro para abelhas por Ladurner et al. (2005); Acka et al. (2009); Ratnakar et al. (2017).

Os pesticidas ambientalmente aceitáveis são conhecidos por sua toxicidade relativamente baixa para organismos não-alvo e biodegradabilidade devido à sua origem botânica. Isso torna possível incorporar tais inseticidas em programas de manejo integrado de pragas (SHANNAG; CAPINEIRA; FREIHAT, 2013). Em áreas de produção orgânica e agroecológica, onde o uso de pesticidas não é permitido, o uso de extratos botânicos é uma alternativa viável para o manejo de insetos-praga podendo tornar o controle mais sustentável (ISMAN 2006; PEREIRA 2014; CAMPOLO et al., 2017).

Os resultados obtidos sugerem que o uso de extratos de nim podem contribuir para futuras ações de conservação e mitigação de riscos relacionados a toxicidade de pesticidas sintéticos em áreas agrícolas a *A. mellifera*, uma vez que essas substâncias se caracterizam como potenciais alternativas no controle de insetos-praga. Além de contribuir para subsidiar novas pesquisas. Ainda sendo necessário a realização de novas avaliações de extratos botânicos em outros organismos benéficos.

6. CONCLUSÕES

Independente da concentração avaliada, os extratos aquosos das folhas e sementes de nim foram pouco tóxicos a *A. mellifera*.

Os extratos aquosos de folhas e sementes de nim não afetaram a capacidade de voo de *A. mellifera*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATI, R.; SAMPAIO, A. R.; MACIEL, R. M. A.; COLOMBO, F. C.; LIBARDONE, G.; BATTISTI, L.; LOZANO, E. R.; GHISI, N. C.; COSTA-MAIA, F. M.; POTRICH, M. Bees and pesticides: the research impact and scientometrics relations. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-17, 2021.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Riverside, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- ABD-ALLAH, S. M.; TABORSKY, V.; KAMLER, F.; KAZDA, J. Effect of two NeemAzal™ formulations on honeybees under semi-field conditions. **Plant Protect. Sci.** v. 41, p. 63–72, 2005.
- AHMAD, A; BAJWA, A. Potential applications of neem based products as biopesticides. **The health journal**, v. 3, n. 4, p. 116-120, 2012.
- AKCA, I.; TUNCER, C.; GULER, A.; SARUHAN, E. Residual toxicity of 8 different insecticides on honey bee (*Apis mellifera* Hymenoptera: Apidae). **Journal of Animal and Veterinary advances**, v. 8, n. 3, p. 436-440, 2009.
- ALVES, D. A. A importância da paisagem agrícola no serviço de polinização das abelhas. **Agricultura e Polinizadores. ABELHA**, p. 32-43, 2015.
- ALVES, J. E. **Toxicidade no nim (*Azadirachta indica* A. Juss.: Melicaceae) para *Apis mellifera* e sua importância apícola na caatinga e mata litorânea cearense**. 2010. 141p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 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 Apicultura Research**, v. 54, n. 4, p. 405-410, 2015.
- ARAÚJO, M. T. S.; SOUSA, A. H.; VASCONCELOS, W. E.; FREITAS, R. S.; SILVA, A. M.; 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 Ciências da Terra**, v. 4, n. 1, p. 0, 2004.
- BADAWY, M. E. I.; NASR, H. M.; RABEA, E. I. Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. **Apidologie** 46, p. 177–193, 2015.
- 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** 48, 275–285, 2017.
- BLACQUIERE, T.; SMAGGHE, G.; CORNELIS A. M.; GESTEL, V.; MOMMAERTS, V. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 973–992, 2012.

BPBES/REBIPP. **Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil**. WOŁOWSKI, M.; AGOSTINI, K.; RECH, A. R.; VARASSIN, I. G.; MAUÉS, M.; FREITAS, L.; CARNEIRO, L. T.; BUENO, R. O.; CONSOLARO, H.; CARVALHEIRO, L.; SARAIVA, A. M.; DA SILVA, C. I.; PADGURSCHI, M. C. G. (Org.). 1ª edição, São Carlos, SP: Editora Cubo. 184 p. 2019.

BROWN, M. J. F.; PAXTON, R. J. The conservation of bees: a global perspective. **Apidologie**, v. 40, n. 3, p. 410-416, 2009.

BUZATO, S.; GIANNINI, T. C.; MACHADO, I. C.; SAZIMA, M.; SAZIMA, I. Polinizadores vertebrados: uma visão geral para as espécies brasileiras. **Polinizadores no Brasil contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, p. 119-141, 2012.

CAIRES, S. C.; BARCELOS, D. Colapso das abelhas: Possíveis causas e consequências do seu desaparecimento na natureza. **ACTA Apícola Brasilica**, v. 5, n. 1, p. 11-15, 2017.

CAMPOLO, O.; CHERIF, A.; RICUPERO, M.; SISCARO, G.; GRISSA-LEBDI, K.; RUSSO, A.; CUCCI, L. M.; PIETRO, P. D.; SATRIANO, C.; DESNEUX, N.; BIONDI, A.; ZAPPALÀ, L. PALMERI, V. Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: chemical properties and biological activity. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 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. Bee colony losses in Brazil: a 5-year online survey. **Apidologie**, v. 50, p. 263–272, 2019.

CASTILHOS, D.; DOMBROSKI, J. L. D.; BERGAMO, G. C.; GRAMACHO, K. P.; GONÇALVES, L. S. Neonicotinoids and fipronil concentrations in honeybees associated with pesticide use in Brazilian agricultural areas. **Apidologie**, v. 50, p. 657–668, 2019.

CHAGNON, M.; KREUTZWEISER, D.; MITCHELL, E. A.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; SLUIJS, J. P. V. Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. **Environmental Science and Pollution Research** v. 22, p. 119–134, 2015.

CORBY-HARRIS, V.; SNYDER, L.; MEADOR, C. A. D.; NALDO, R.; MOTT, B.; ANDERSON, K. E. *Parasaccharibacter apium*, gen. nov., sp. nov., improves honey bee (Hymenoptera: Apidae) resistance to *Nosema*. **Journal of economic entomology**, v. 109, n. 2, p. 537-543, 2016.

COSTA, C. C. A.; OLIVEIRA, F. L. Polinização: serviços ecossistêmicos e o seu uso na agricultura. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 3, p. 1, 2013.

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.

COSTA, E. M.; TORRES, S. B.; FERREIRA, 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**, v. 47, p. 401-406, 2016.

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

ELBERT, A.; HAAS, M.; SPRINGER, B.; THIELERT, W.; NAUEN, R. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 64, n. 11, p. 1099-1105, 2008.

FAIRBROTHER, A.; PURDY, J.; ANDERSON, T.; FELL, R. Risks of neonicotinoid insecticides to honeybees. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 33, n. 4, p. 719-731, 2014.

FERNANDES, S. R.; BARREIROS, L.; OLIVEIRA, R. F.; CRUZ, A.; PRUDÊNCIO, C.; OLIVEIRA, A. I.; PINHO, C.; SANTOS, N.; MORGADO, J. Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art. **Fitoterapia**, v. 134, p. 141-150, 2019.

FRAZIER, M. T.; MULLIN, C. A.; FRAZIER, J. L.; ASHCRAFT, S. A.; LESLIE, T. W.; MUSSEN, E. C.; DRUMMOND, F. A. Assessing honey bee (Hymenoptera: Apidae) foraging populations and the potential impact of pesticides on eight US crops. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 2141-2152, 2015.

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

FREITAS, B. M.; SILVA, C. I. O papel dos polinizadores na produção agrícola no Brasil. **Associação Brasileira de Estudos das Abelhas, Agricultura e polinizadores**, p. 9-18, 2015.

GAHUKAR, R. T. Use of neem products/pesticides in cotton pest management. **International Journal of Pest Management**, v. 46, p. 149-160, 2000.

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.

GARRATT, M. P. D.; BREEZE, T. D.; JENNER, N.; POLCE, C.; BIESMEIJER, J. C.; POTTS, S. G. Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 184, p. 34-40, 2014.

GENERSCH, E. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 87, n. 1, p. 87-97, 2010.

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. 849-857, 2015.

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

GONZÁLEZ-GÓMEZ, R.; OTERO-COLINA, G.; VILLANUEVA-JIMÉNEZ, J. A.; SANTILLÁN-GALIZA, T.; PEÑA-VALDIVIA, C. B.; SANTIZO-RINCÓN, J. A. 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.

GONZÁLEZ-VARO, J. P.; BIESMEIJER, J. C.; BOMMARCO, R.; POTTS, S. G.; SCHWEIGER, O.; SMITH, H. G.; STEFFAN-DEWENTER, I.; SZENTGYORGYI, H.; WOYCIECHOWSKI, M.; VILÁ, M. Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. **Trends in ecology & evolution**, v. 28, n. 9, p. 524-530, 2013.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTÍAS, C.; ROTHERAY, E. L. Combined stress from parasites, pesticides and lack of flowers drives bee declines. **Science**, v. 347, n. 6229, p. 1255957, 2015.

GUAZZELLI, M. J. **Brasil: O maior consumidor de agrotóxicos**. HU On Line, 2009. Disponível em: <<http://www.ecodebate.com.br/2009/06/09/brasil-o-maior-consumidor-de-agrotoxicos-entrevista-especial-com-maria-jose-guazzelli/>>. Acesso em 05 mai. 2021.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GONÇALVES, L. S.; FRANCOY, T. M.; NUNES-SILVA, P. O desaparecimento das abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e as perspectivas do uso de abelhas não melíferas na polinização. **Doc. (Embrapa Semi-Árido. Online)**, v. 249, p. 210-233, 2012.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização. **São Paulo: USP**, 2004.

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

KIILL, L. H. P.; COELHO, M. S.; SIQUEIRA, K. M. M.; COSTA, N. D. Avaliação do padrão de visitação de *Apis mellifera* em três cultivares de meloeiro, em Petrolina -PE, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 455-460, 2011.

KLATT B. K.; HOLZSCHUH A.; WESTPHAL C.; CLOUGH Y.; SMIT I.; PAWELZIK E.; TSCHARNTKE T. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281. p. 1-8, 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 landscapes for world crops. **Proceedings of the royal society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 47, p. 583-621, 1952.

LADURNER, E.; BOSCH, J.; KEMP, W. P.; MAINI, S. Assessing delayed and acute toxicity of five formulated fungicides to *Osmia lignaria* Say and *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 36, n. 3, p. 449-460, 2005.

LE CONTE, Y.; ELLIS, M.; RITTER, W. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses?. **Apidologie**, v. 41, p. 353-363, 2010.

MACIEL, F. A. O.; BRAGA, A. R.; DA SILVA, T. L. C.; FREITAS, B. M.; GOMES, D. G. 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.

MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. Organic food: buying more safety or just peace of mind? A critical review of the literature. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 46, n. 1, p. 23-56, 2006.

MALASPINA, O.; SOUZA, T. F.; ZACARIN, E. C. M. S.; CRUZ, A. S.; JESUS, D. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. VIII Encontro Sobre Abelhas. **Resumos...**Ribeirão Preto: FUNPEC, p. 41-48, 2008.

MALERBO-SOUZA, D. T.; NOGUEIRA-COUTO, R. H.; COUTO, L. A. Honey bee attractants and pollination in sweet orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, var. Pera-Rio. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. 144-153, 2004.

MELATHOPOULOS, A. P.; WINSTON, M. L.; WHITTINGTON, R.; SMITH, T.; LINDBERG, C.; MUKAI, A.; MOORE, M. Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees (Hymenoptera: Apidae), their mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae), and brood pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascophaera apis*. **Journal of economic entomology**, v. 93, n. 2, p. 199-209, 2000a.

MELATHOPOULOS, A. P.; WINSTON, M. L.; WHITTINGTON, R.; HIGO, H.; DOUX, M. L. Field evaluation of neem and canola oil for the selective control of the honey bee (Hymenoptera: Apidae) mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae). **Journal of economic entomology**, v. 93, n. 3, p. 559-567, 2000b.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss): múltiplos usos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 139-148, 2005.

NEUMANN, P.; CARRECK, N. L. Honey bee colony losses, **Journal of Apicultural Research**, 49:1, 1-6, 2010.

NOCELLI, R. C.; ROAT, T. C.; ZACARIN, E. C. S.; MALASPINA, O. Riscos de pesticidas sobre as abelhas. **Semana dos Polinizadores**, v. 3, 2012.

OSBORNE, J. L. Bumblebees and pesticides. **Nature**, v. 491, n. 7422, p. 43-45, 2012.

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

PASHTE, V. V.; PATIL, C. S. Toxicity and poisoning symptoms of selected insecticides to honey bees (*Apis mellifera* L.). **Archives of Biological Sciences**, v. 70, n. 1, p. 005-012, 2018.

PEREIRA, A. J. **Diálogos de saberes no cultivo de hortas agroecológicas**. 2014. 96p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

PEREIRA, L. H.; BARBOSA, F. K. N.; OLIVEIRA, F. M.; CALDAS, F. R. L.; NASCIMENTO, P. S. S. Efeitos do uso de pesticidas nas abelhas: revisão sistemática em bases de dados científicas. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 32821-32833, 2019.

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, 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 & evolution**, v. 25, n. 6, p. 345-353, 2010.

RAINE, N. E. A systemic problem with pesticides. **Nature**, v. 561, n. 7721, p. 40-41, 2018.

RAGURAMAN, S.; KANNAN, M. Non-target effects of botanicals on beneficial arthropods with special reference to *Azadirachta indica*. **Advances in plant biopesticides**, p. 173-205, 2014.

RATNAKAR, V.; RAO, S. R. K.; SRIDEVI, D.; VIDYASAGAR, B. Contact toxicity of certain conventional insecticides to European honeybee, *Apis mellifera* Linnaeus. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 8, p. 3359-3365, 2017.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. 2019. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em 14 fev. 2022.

RHODES, C. J. Pollinator decline - an ecological calamity in the making?. **Science Progress**, v. 101, n. 2, p. 121-160, 2018.

ROAT, T. C.; SANTOS-PINTO, J. R. A.; MIOTELO, L.; SOUZA, C. L.; PALMA, M. S.; MALASPINA, O. Using a toxicoproteomic approach to investigate the effects of thiamethoxam into the brain of *Apis mellifera*. **Chemosphere**, v. 258, p. 127362, 2020.

RODRIGUES, J. S.; SILVA, M. G. G.; CASTRO, R. M. Atividade inseticida de extratos vegetais e seletividade a insetos benéficos. **Revista Semiárido de Visu**, v. 5, n. 3, p. 138-148, 2017.

RORTAIS, A.; ARNOLD, G.; HALM, M. P.; TOUFFET-BRIENS, F. Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie**, v. 36, n. 1, p. 71-83, 2005.

ROSA, J. M.; ARIOLI, C. J.; NUNES-SILVA, P.; GARCIA, F. R. M. Desaparecimento de abelhas polinizadoras nos sistemas naturais e agrícolas: Existe uma explicação?. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 1, p. 154-162, 2019.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual review of entomology**, v. 35, n. 1, p. 271-297, 1990.

SHANNAG, H. K.; CAPINERA, J. L.; FREIHAT, N. M. Effects of neem-based insecticides on consumption and utilization of food in larvae of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of insect science**, v. 15, n. 1, p. 152, 2015.

SHANNAG, H. K.; CAPINEIRA, J. L.; FREIHAT, N. M. Use of neem-based insecticides against southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Stoll) (Lepidoptera: Noctuidae). **Trends in Entomology**, v. 9, p. 45-53, 2013.

SILVA, A. B.; DE LUNA BATISTA, J.; DE BRITO, C. H. Atividade inseticida do nim, *Azadirachta indica* A. Juss. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n. 4, p. 2, 2009.

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

SOGLIA, M.C.; OSÓRIO, A.C.B.; SANTOS NETO, C.; FANCELLI, M.; MACÊDO, E.F.; NASCIMENTO, A.S. Usos e aplicações do nim (*Azadirachta indica*). **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical; Boletim Técnico**, 2006.

SOUZA, D. L.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; DE CALDAS PINTO, M. S. As abelhas como agentes polinizadores. **REDVET. Revista electrónica de Veterinária**, v. 8, n. 3, p. 1-7, 2007.

THERNEAU, T.; LUMLEY, T. survival: **Survival analysis, including penalised likelihood. R packageversion**, v. 2, p. 36-2, 2010. Disponível em: <<http://cran.r-project.org/package=survival>>. Acesso em: 14 fev. 2022.

VANBERGEN, A. J.; INITIATIVE, T. I. P. Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 11, n. 5, p. 251-259, 2013.

VANDAME, R.; PALACIO, M. A. Preserved honey bee health in Latin America: a fragile equilibrium due to low-intensity agriculture and beekeeping? **Apidologie**, v. 41, p. 243-255, 2010.

VAN DER SLUIJS, J. P.; SIMON-DELISO, N.; GOULSON, D.; MAXIM, L.; BONMATIN, J. M.; BELZUNCE, L. C. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current opinion in environmental sustainability**, v. 5, n. 3-4, p. 293-305, 2013.

VIDIGAL, D. D. S.; BRASILEIRO, B. G.; DIAS, D. C. F.; ALVARENGA, E. M.; BHERING, M. C. Germinação e morfologia do desenvolvimento pós-seminal de sementes de nim-indiano (*Azadirachta indica* A. Juss - Meliaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 39-46, 2007.

XAVIER, V. M.; DEJAIR, M.; PICANÇO, M. C.; CHEDIAK, M.; JÚNIOR, P. A. S.; 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, 2015.

XAVIER, V. M.; MASSAGE, D.; PIKANÇO, M. C.; CAMPOS, M. R.; CHEDIAK, M.; GALDINO, T. V. D. S. Toxicidade de inseticidas botânicos à *Apis mellifera* polinizadora do cafeeiro. VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa - Café, 2009.