



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ZOOTECNIA**

FRANCISCA NATÁLIA BRITO ROCHA

**PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO
COMBATE AS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale*)
PARA O SEU POLINIZADOR, A ABELHA *Apis mellifera* L.**

FORTALEZA

2017

FRANCISCA NATÁLIA BRITO ROCHA

PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO
COMBATE AS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale*) PARA
O SEU POLINIZADOR, A ABELHA *Apis mellifera* L.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Produção e Melhoramento Animal.

Orientador: Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- B875p Brito Rocha, Francisca Natália.
Parâmetros Toxicológicos De Óleos Essenciais Utilizados No Combate As Pragas Da Cultura Do Cajueiro (Anacardium Occidentale) Para O Seu Polinizador, A Abelha Apis Mellifera L. / Francisca Natália Brito Rocha. – 2017.
35 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas .
Coorientação: Prof. Dr. Raimundo Braga Sobrinho .
1. abelha melífera. 2. agrotóxico. 3. óleos essenciais. 4. DL50; CL50. 5. efeitos letais. I. Título.
CDD 636.08
-

FRANCISCA NATÁLIA BRITO ROCHA

PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO
COMBATE AS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale*) PARA
O SEU POLINIZADOR, A ABELHA *Apis mellifera* L.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Produção e Melhoramento Animal.

Aprovada em: 24/07/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas (ORIENTADOR)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

PhD. Raimundo Braga Sobrinho (COORIENTADOR)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus Pai Todo Poderoso e Misericordioso.

Em memória aos meus pais Cláudia e Florêncio, meus avós Sr. Brito e Maria Júlia e o meu daddy Fábio Leopoldo Giannini.

A meu esposo Ismael Barbosa.

A minha mãe de criação Cléia e seu esposo Assis, e meus padrinhos Célia e Doutor.

Aos meus irmãos Fábio, Fatinha, Daniele e Maria.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus Pai Todo Poderoso, Senhor Jesus Cristo, a Virgem soberana Mãe Imaculada Conceição e ao Mestre Irineu, a minha gratidão por tudo o que sou e tudo que tenho.

Ao meu esposo Ismael Barbosa, por todo amor, apoio, companheirismo, respeito e compreensão.

A minha família, tia Cléia Satiles, Assis, meus irmãos Maria, Daniele, Fatinha e Fábio, minhas primas Chyrlla e Cheila, por todo amor, apoio em todos os momentos, confiança e gratidão por estarem comigo sempre que precisei.

Ao professor Dr. Breno Magalhães Freitas, por sua total dedicação na minha orientação, por sua paciência, compreensão, apoio, conselhos e ensinamentos. Gratidão imensa por tudo!

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará pela disponibilização da estrutura e ensinamentos repassados durante este período.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) por conceder-me essa bolsa de estudos, colaborando muito na realização deste trabalho.

Ao Dr. Raimundo Braga Sobrinho, pela disponibilização na execução deste trabalho. Gratidão por tudo!

Ao Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino pela disponibilização em participar da minha banca.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela estrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

A todos do Laboratório de Entomologia, em especial Socorro, Carlinhos e Dr. Marlon.

A Dra. Rita de Cássia, pela amizade, pelos conselhos, ensinamentos e todo apoio.

A todos do Laboratório de Multiusuário de Química de Produtos Naturais, especialmente a Tigressa Helena por sua grande ajuda, ensinamentos durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Isac Abrahão Bomfim, pela disponibilização em me ajudar, sempre que eu precisei. Gratidão pela amizade.

A minha amiga Laísa, pela sua ajuda na execução deste trabalho, gratidão pela sua amizade.

Aos colegas: Gercy Soares, Irailde Lima, Jânio Félix, Leonardo Gurgel que sempre estiveram à disposição em ajudar e a todos que fazem parte do Grupo de Pesquisas com Abelhas (GPA).

Ao meu amigo Paulo Herbesson, pela amizade, conselhos e grande ajuda na execução deste trabalho. Gratidão por tudo!

Aos funcionários do Setor de Abelhas que colaboraram muito para a realização deste trabalho, Sr. Francisco e Sr. Hélio.

A todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. Gratidão imensa por tudo!

“Bendito seja o Deus e Pai de nosso Senhor Jesus Cristo, o Pai das misericórdias e Deus de toda a consolação, que nos conforta em toda a nossa tribulação, para que possamos consolar os que estão em qualquer dificuldade, com o conforto com que Nós mesmos somos consolados por Deus”

(2 Coríntios 1, 3-4).

RESUMO

O uso de óleos essenciais como inseticida natural tem sido uma alternativa no lugar do agrotóxico, sendo este apontado como responsável pela contaminação de pessoas, animais e o ambiente, como também ser um dos motivos pela diminuição na diversidade e abundância dos polinizadores agrícolas. No entanto, o efeito deste produto natural sobre os polinizadores, especialmente as abelhas, ainda é pouco investigado. O presente estudo buscou determinar os parâmetros toxicológicos de óleos essenciais utilizados no combate as pragas da cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale*) para o seu principal polinizador, a abelha melífera (*Apis mellifera* L.) O estudo seguiu as normas internacionais estabelecidas pela OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) para testar o nível de toxicidade determinando a dose letal média tópica (DL₅₀) e a concentração letal média oral (CL₅₀) as 24 e 48h, tendo por modelo operárias da abelha *A. mellifera*. Para tanto, foram testados os óleos essenciais de 10 espécies: *Cymbopogon citratus*, *C. winterianus*, *Foeniculum vulgare*, *Lippia alba*, *L. sidoides*, *Mentha arvensis*, *Ocimum basilicum*, *O. gratissimum*, *O. micranthum* e *O. selloi*, em concentrações de 0,125, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0%. Os resultados mostraram que todos os óleos essenciais testados foram tóxicos para *A. mellifera*, mas a mortalidade foi diferenciada de acordo com o óleo essencial da espécie vegetal testada e as concentrações utilizadas. A DL₅₀ variou das 0,254% às 48h para *C. winterianus* a 3,780% as 24h para *O. micranthum*, enquanto a CL₅₀ variou das 0,398% às 48h para *M. arvensis* a 2,135% as 24h para *L. alba*. Conclui-se que os óleos essenciais estudados não são seguros para uso na presença de insetos polinizadores, a não ser que tomadas medidas de manejo para evitar a exposição por contato ou oral dos mesmos com o produto.

Palavras-chave: abelha melífera; agrotóxico; óleos essenciais; DL₅₀; CL₅₀; efeitos letais.

ABSTRACT

The use of essential oils as a natural insecticide has been an alternative to pesticides, which have been implicated as a cause of human, animal, and environmental contamination, as well as a factor in the decline in the diversity and abundance of agricultural pollinators. However, the effects of this natural product on pollinators, especially bees, remain under-researched. The present study aimed to determine the toxicological parameters of essential oils used to combat pests of cashew (*Anacardium occidentale*) crop for its main pollinator, the honeybee (*Apis mellifera*). The study followed the international standards established by the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) to test toxicity level by determining the topical average lethal dose (LD₅₀) and the average oral lethal concentration (LC₅₀) at 24 and 48 hours, using the bee *A. mellifera* as surrogate. Thus, essential oils of 10 plant species were tested: *Cymbopogon citratus*, *C. winterianus*, *Foeniculum vulgare*, *Lippia alba*, *L. sidoides*, *Mentha arvensis*, *Ocimum basilicum*, *O. gratissimum*, *O. micranthum* and *O. selloi*, in concentrations 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0%. Results showed that all the essential oils tested were toxic to *A. mellifera*, but mortality varied according to the essential oil of the tested plant species and concentrations used. The LD₅₀ ranged from 0.254% at 48 hours for *C. winterianus* to 3.780% at 24 hours for *O. micranthum*, while the LC₅₀ ranged from 0.398% at 48 hours for *M. arvensis* to 2.135% at 24 hours for *L. alba*. It is concluded that the essential oils studied are not safe for use in the presence of pollinating insects, unless management measures are taken to avoid their contact or oral exposure with the product.

Keywords: Honeybee; pesticides; essential oils; LD₅₀; LC₅₀; lethal effects.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 — Registro das Plantas do Horto da EMBRAPA no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará..... | 22 |
| Tabela 2 — Toxicidade aguda tópica em 24 e 48 horas para abelhas operárias de <i>Apis mellifera</i> L. de óleos essenciais de dez espécies vegetais usados no combate a pragas da Cultura do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.)..... | 26 |
| Tabela 3 — Toxicidade aguda oral em 24 e 48 horas para abelhas operárias de <i>Apis mellifera</i> L. de óleos essenciais de dez espécies vegetais usados no combate a pragas da cultura do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.)..... | 27 |
| Tabela 4 — Modelos de Regressão Log-logistic do grau de toxicidade dos óleos essenciais em operárias de <i>A. mellifera</i> | 28 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Aplicação de óleo essencial no pronoto da abelha por meio de uma micropipeta.. 23
- Figura 2 - Abelhas acondicionadas em potes plásticos de 250 mL e divididas por tratamentos dentro da BOD (demanda bioquímica de oxigênio) 24
- Figura 3 - Aplicação de óleo essencial no pronoto da abelha por meio de uma micropipeta para determinação da dose letal média tópica (DL50) 25

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1 | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 14 |
| 1.1 | As abelhas | 14 |
| 1.2 | Os impactos gerados pelos agrotóxicos às abelhas..... | 15 |
| 1.3 | Óleos essenciais..... | 17 |
| 1.4 | Cajueiro (<i>Anacardium occidentale L.</i>)..... | 18 |
| 2 | PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO COMBATE AS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO (<i>Anacardium Occidentale</i>) PARA O SEU POLINIZADOR, A ABELHA (<i>Apis mellifera L.</i>) | 20 |
| 2.1 | INTRODUÇÃO..... | 20 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 21 |
| 3.1 | Época, localização e etapas..... | 21 |
| 3.2 | Obtenção dos Óleos Essenciais..... | 21 |
| 3.3 | Material Biológico..... | 23 |
| 3.4 | Determinação (DL ₅₀) média tópica e a (CL ₅₀) média por ingestão..... | 23 |
| 4. | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 26 |
| 5. | CONCLUSÕES..... | 29 |
| | REFERÊNCIAS..... | 30 |

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 As abelhas

As abelhas pertencem à ordem Hymenoptera (do grego *hymen* = membrana e *pteron* = asa) que recebe esse nome por congregar insetos que possuem asas membranosas. São popularmente conhecidos como abelhas, marimbondos, mamangavas, vespas, formigas e outros, com diferentes denominações regionais que distinguem cada grupo, gênero ou espécie. Os insetos dessa ordem vivem em colônias ou de forma solitária. Constroem ninhos utilizando vários substratos como cera, terra, resinas, celulose e outros materiais (FREITAS, 1999; FREITAS, 2009; MELO et al, 2012).

As abelhas têm suas origens a mais de 100 milhões de anos, tendo surgido logo após o aparecimento das primeiras Angiosperma (plantas com flores) (TAUTZ, 2008; BERNAL et al., 2011). Nesse longo período e diante do processo evolutivo, elas tornaram-se um dos mais importantes sistemas de sustentação à vida. Atualmente o mundo possui por volta 20 mil diferentes espécies de abelhas, mas pode existir em número bem maior haja vista o grande desconhecimento taxonômico ainda existente (RICKETTS et al., 2008; OLLERTON et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013)

Esses insetos coletam recursos das flores das angiospermas e um deles, o pólen, fertiliza os óvulos quando são deixados despropositadamente, mas de modo efetivo, no estigma floral (MICHENER, 2007). É pelo processo de polinização que há expansão dos frutos vingados, aumento significativo do número de grãos por vagem, e há também a melhoria da qualidade dos frutos e a queda das malformações (CORBET; WILLIAMS; OSBORNE, 1991). Devido a isso, segundo a Food and Agricultural Organization (FAO), 33% da alimentação humana depende em algum grau de plantas cultivadas polinizadas muitas vezes pelas abelhas (FAO, 2013).

Dentre as diversas espécies de abelhas, a abelha melífera (*Apis mellifera* L.) é a mais utilizada pelo Ser Humano, tanto por meio da apicultura, atividade de criação dessas abelhas capaz de trazer impactos positivos nos contextos econômico, social e ambiental, uma vez que completa a renda dos agricultores, contribui para a mão de obra familiar e soma alternativas para a preservação da flora nativa, quanto por ser a mais utilizada para polinização de culturas agrícolas (PASIN et al. 2012; ORTH et al., 2012; PIRES et al., 2016).

A abelha melífera possui características que a torna excelente polinizadora como adaptação a diversos ambientes, fácies de manejar, forma colônias com grandes populações de

abelhas e, com isso, necessitam de grandes quantidades de pólen diariamente; pode ser manejada para coletar o néctar e/ou o pólen, possui tipo de visita generalista ou especialista, e consegue coletar recursos de diversas flores e formas (JAFFÉ et al., 2016; GIANNINI et al., 2015; FREITAS et al., 1996, 2014).

No entanto, estudos recentes têm relatado o desaparecimento de grandes quantidades de colônias de *A. mellifera*, especialmente nos EUA, no que se tornou conhecido como o declínio das abelhas (PAREJA et al., 2011; LAURENT et al., 2015; VANENGELSDORP et al., 2009). Embora se busque uma razão para esse declínio, é provável que um único fator não pode ser responsável por todas as perdas observadas (PEREIRA, 2010). Atualmente, muitos fatores podem estar associados ao declínio das populações da abelha *A. mellifera*, dentre os quais se pode destacar: queimadas e desmatamento de áreas com vegetação nativa para implantação e/ou expansão de cidades ou áreas agrícolas, intensificando a agricultura e levando a perda do habitat das abelhas; uso inadequado de práticas de cultivo, como a utilização abusiva de agrotóxicos, principalmente nas áreas de monoculturas, sendo este último o fator mais impactante para os polinizadores (FREITAS; PINHEIRO, 2010, 2012; VAN ENGELSDORP; MEIXNER, 2010). A implementação desse método de cultivo elimina consideravelmente muitas espécies de plantas nativas, as quais fornecem néctar, pólen, locais de descanso, nidificação e reprodução aos insetos (FREITAS et al., 2009; BROWN; OLIVEIRA, 2014, GARIBALDI et al. 2016).

1.2 Os impactos gerados pelos agrotóxicos às abelhas

Por décadas, os agrotóxicos têm sido a maior ferramenta de proteção das culturas cultivadas e a cada ano diferentes compostos com os mais variados modos de ação, são comercializados mundialmente (LAMBERTH et al, 2013). De fato, os agrotóxicos cumprem o papel de proteger as culturas agrícolas das pragas, doenças e plantas daninhas. Entretanto, quando disseminados no ambiente, podem causar sérios danos, levando até mesmo à alteração da dinâmica natural de pressão de seleção exercida sobre os organismos, tendo como consequência, mudanças no ecossistema afetado (SPADOTTO, 2006). A abelha melífera pode sofrer prejuízos, como por exemplo, interferência na divisão de trabalho da colônia, diminuição da longevidade, interferência na comunicação e aprendizado, no desenvolvimento da rainha, diminuição da atividade de forrageamento, alterações na atividade de locomoção e morfológicas (DECOURTYE et al., 2004; PETTIS et al., 2004; EL HASSANI et al., 2005; CRUZ et al., 2010; FREITAS; PINHEIRO, 2010; GILL et al., 2012).

Estudo realizado por Costa et al. (2005), avaliou três formas de contaminação das

abelhas a alguns produtos fitossanitários: a pulverização direta no inseto; o contato com as folhas de melão (*Cucumis melo* L.) contaminadas com inseticida; e o alimento contaminado com os inseticidas. Esses autores constataram que abamectina, tiametoxom e clorfenapir, foram extremamente tóxicos para os insetos independente da forma de exposição, enquanto, acetamiprido, cartap e deltametrina foram tóxicos quando pulverizados sobre as abelhas, sendo que o flufenoxuron foi prejudicial quando ofertado em alimento contaminado.

Entretanto, os efeitos tóxicos dos produtos químicos não se limitam somente aos insetos adultos. Em pesquisa realizada por Zhu et al. (2014), clorotalonil, clorpirifós e fluvalinate foram avaliados individualmente e em combinações, sendo que todos provocaram acréscimo na mortalidade de larvas de *A. mellifera*, bem como a ocorrência de sinergismo entre as moléculas, como no caso de clorotalonil e fluvalinate.

A aplicação destes é uma prática agrícola comum em áreas tropicais, por exemplo, 500 ingredientes ativos de pesticidas estão registrados no Brasil (SILVEIRA e FILHO, 2013) e mais de 150 destes são atualmente usados e sabidamente tóxicos para as abelhas (DEVILLERS et al., 2003; MULLIN et al., 2010). No entanto, o risco para as espécies de polinizadores tem sido praticamente inexplorado, embora se suspeite que os polinizadores nativos estejam seriamente ameaçados por aplicações desses fitossanitários (MORANDIN, WINSTON, 2005; OSBORNE 2012, DECOURTYE et al., 2013).

O Fipronil é recomendado para controle de insetos em várias culturas, como cana-de-açúcar, soja, milho, eucalipto e outros (TINGLE et al., 2003). No entanto, para além dos insetos-alvo, fipronil demonstrou toxicidade elevada em insetos não-alvo (EL HASSANI et al., 2005). A toxicidade do mesmo está bem documentada para a abelha *A. mellifera*, onde se demonstrou que doses subletais podem alterar a sensibilidade à sacarose, orientação e o comportamento de forrageamento (DECOURTYE et al., 2005)

Atualmente, os piretróides são largamente utilizados, devido ao fato de apresentarem características favoráveis, como por exemplo, baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental, efetividade contra um largo espectro de insetos e necessidade de baixas quantidades para exercerem sua ação. No entanto, ensaios laboratoriais demonstraram que os piretróides são muito tóxicos para peixes, abelhas, camarões e lagostas, podendo agir em espécies não alvo, devido a erros durante a aplicação nas culturas (SANTOS et al., 2007).

Dessa forma, o interesse por produtos naturais de origem botânica para o controle de pragas, em substituição aos agrotóxicos tradicionais, tem aumentado. Substâncias com menores riscos à saúde humana e ao ambiente vêm sendo avaliadas, fato este somado à demanda crescente por produtos alimentícios saudáveis e isentos de resíduos de agrotóxicos. Os problemas

decorrentes da utilização de pesticidas químicos apontam para a necessidade de se desenvolver novos tipos de agentes de controle mais seletivos e menos agressivos ao homem e ambiente (LEE et al., 2001, KIM et al., 2003).

1.3 Óleos essenciais

Como os agrotóxicos têm sido apontados como uma das principais causas do sumiço das abelhas e da contaminação ao meio ambiente, o interesse por produtos botânicos para o controle de pragas tem aumentado. Inseticidas botânicos são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas, (KIM et al., 2003; MENEZES, 2005), que compõem a própria defesa química contra os insetos herbívoros. Os princípios ativos podem derivar de toda a planta ou partes dela, podendo ser o próprio material vegetal, normalmente, moído até ser reduzido a pó, ou produtos derivados por extração aquosa ou com solventes orgânicos (ISMAN, 2000; TRIPATHI et al., 2009).

O uso de plantas como repelentes contra insetos é comum, como mostrado por Kweka et al. (2008) inclusive contra vetores da malária. Desta forma, é necessário investigar o potencial destas plantas para o controle de insetos. De acordo com Menezes, (2008) esses produtos podem apresentar ação tóxica e causar a morte de insetos, atuando sobre o sistema nervoso central. É importante notar que muitas substâncias que apresentam ação tóxica aos insetos, podem apresentar também efeitos similares no homem.

Podem atuar de várias formas, principalmente, quando o responsável pela ação é uma complexa mistura de substâncias. Os metabólicos secundários de plantas com efeitos inseticidas podem agir como inibidores da alimentação de insetos ou dificultadores de crescimento, desenvolvimento, reprodução e comportamento. Os inseticidas botânicos podem apresentar ação tóxica e causar a morte de insetos, atuando sobre o sistema nervoso central. É importante notar que muitas substâncias que apresentam ação tóxica aos insetos, podem apresentar também efeitos similares no homem (VILELA, 1990; MENEZES, 2005; MESQUITA, et al. 2008).

É grande a quantidade de espécies botânicas que possuem componentes químicos úteis no controle de pragas agrícolas. Das 866 diferentes espécies de plantas descritas, 256 possuem componentes biologicamente ativos com potencial para serem usados contra pragas. O uso de extratos de plantas no controle de insetos-praga tem sido extensivamente citado na literatura. Vários são os exemplos de casos de sucesso, como no controle do percevejo, *Nezara viridula* L. e *Euschistus herus* F., (PERES; CORREIA-FERREIRA, 2006); da mosca-branca, *Bemisia*

tabaci Glenn, (GONÇALVES; BLEICHER, 2006); de insetos de grãos armazenados (OGENDO et al., 2008); da mosca-das-frutas (SILVA et al., 2015); e da lagarta-do-cartucho do milho (GIONGO et al., 2016), entre outros.

Dentro desse contexto, o uso de óleos essenciais tem sido uma alternativa desenvolvida para o controle de pragas, onde vem se mostrando eficientes. O termo, óleo essencial é definido como sendo o produto obtido de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor de água, bem como os obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (KOUL et al., 2008; TRIPATHI et al., 2009; BRAGA SOBRINHO et al., 2012). As plantas possuem grande diversidade de compostos obtidos do seu metabolismo secundário que podem apresentar ações inseticidas, acaricidas, fungicidas e bactericidas (MESQUITA, et al. 2008).

1.4 Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma das principais frutíferas de importância econômica e social para a região nordeste do Brasil. Os principais estados produtores são o Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. Esses três estados são responsáveis por cerca de 97,0% da produção brasileira de castanha. Estima-se que a cadeia produtiva do caju no ano de 2010 tenha representado valores em torno de R\$ 450 milhões com vendas para os mercados externo e interno (PAULA PESSOA et al, 1995). A importância do cultivo do cajueiro no Nordeste brasileiro, além da produção da castanha, pseudofrutos e derivados, está também na criação de abelhas e produção do mel, principalmente de abelhas melíferas, que está intimamente associada à época de floração da cultura, essencialmente na apicultura migratória (SANTOS et al., 2007; SILVA et al., 2008).

O cajueiro é uma planta andromonóica, ou seja, possui flores estaminadas (masculinas) e perfeitas (hermafroditas) na mesma inflorescência. As inflorescências, por sua vez, são panículas terminais que podem produzir durante sua vida entre 200 e 1600 flores. No período de florada, cada árvore chega a produzir em média cem inflorescências de várias idades diferentes (FREITAS 1994; CAVALCANTI e BARROS 2009). A relação entre flores masculinas e hermafroditas varia bastante em função do estágio de florescimento da planta e do material genético estudado, podendo oscilar de 0,5 a 25 flores masculinas para cada flor hermafrodita (DAMODARAN et al. 1979; FREE 1993). Dessa forma, é uma espécie que depende de polinização por seres vivos, especialmente abelhas, para apresentar uma boa produtividade (FREITAS E PAXTON, 1996, 1998; HOLANDA-NETO et al. 1998).

O valor econômico do cajueiro se revela em face das múltiplas opções de

aproveitamento, como a amêndoa da castanha, o líquido da casca da castanha, a película das amêndoas, a casca da castanha e o pedúnculo. No agronegócio do caju, encontram-se inseridas diversas atividades econômicas que vão desde a produção agrícola, passando pelo processamento da castanha e do pedúnculo e pelo segmento das embalagens, transporte e armazenamento, movimentando nos mercados interno e externo grande volume de recursos (CASTRO et al., 2001; GUANZIROLI et al. 2009; LOPES, 2012).

A partir dos anos 60, a cultura teve grande incremento da área plantada, favorecida por programas governamentais de incentivo ao plantio. O estabelecimento de grandes áreas de monocultivo promoveu o desequilíbrio ambiental e favoreceu o surgimento de problemas de ordem fitossanitária, dentre eles, as principais pragas (mosca-branca e traça-da-castanha) do cajueiro, onde o uso de inseticidas se mostrou eficiente no combate (MESQUITA et al., 2005).

O controle da praga é realizado exclusivamente com o uso de inseticidas, e, de acordo com Corso e Gonçalves (1984); Vidal (1988); Mesquita et al. (2005), é notório o uso de diversos princípios ativos sem o devido registro para essa cultura. De um modo geral, o uso dos dois princípios ativos (deltametrina e trichorfon) não registrados para a mosca-branca-do cajueiro podem afetar as populações de abelhas de *A. mellifera*, principal espécie responsável pela polinização do cajueiro.

Como se verifica, os inseticidas registrados para o cajueiro afetam diretamente a população das abelhas e, por outro lado, podem afetar também as exportações de mel, caso sejam encontrados resíduos desses produtos. Nesse sentido, o controle de pragas do cajueiro, entre elas a mosca-branca (*Aleyrodicus cocois*), deve ser feito com muito critério e conhecimento dos riscos ao meio ambiente, em particular às abelhas (KOUL et al., 2008; PERES; CORREIA-FERREIRA, 2006).

Especificamente para o controle de ninfas da mosca-branca-do cajueiro e seu efeito em operárias de abelha *A. mellifera*, constatou-se que os óleos de mamona (*Ricinus communis* L.), do nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e da soja (*Glycine max* L. Merrill) a 2,0% apresentaram uma eficiência de 91,0% no controle dessa praga entre o segundo e o quinto dia após a aplicação dos óleos, sem causar toxicidade às abelhas (OGENDO et al., 2008; CINTRA et al. 2002).

Portanto, a busca por alternativas de controle à pragas sem o uso de agrotóxicos tem apontado para o emprego de produtos naturais, porém é necessário conhecer a segurança desses produtos para os polinizadores. No presente estudo se investigou a toxidez tópica e por ingestão para *A. mellifera* de 10 óleos essenciais de diferentes espécies botânicas utilizadas no controle de pragas do cajueiro.

PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS UTILIZADOS NO COMBATE AS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale*) PARA O SEU POLINIZADOR, A ABELHA *Apis mellifera* L.

2 INTRODUÇÃO

As abelhas visitam 90% das espécies vegetais cultivadas pelo homem e são responsáveis pela polinização total ou parcial da grande maioria das culturas agrícolas (IPBES, 2016). Recentemente, no entanto, a diversidade e abundância desses polinizadores vêm diminuindo nas áreas cultivadas comprometendo a produção e produtividade das culturas, especialmente nos países em desenvolvimento (GARIBALDI et al. 2016). Vários fatores têm sido apontados como responsáveis pelo declínio das abelhas, dentre eles as mudanças climáticas, perda de habitat, doenças e pragas, espécies invasoras competidoras, pesticidas, dentre outros (FREITAS et al., 2009; LEBUHN et al. 2013).

Os pesticidas, principalmente os neonicotinoides, devido ao seu modo de ação sistêmico de longa duração na planta e efeito neurotóxico sobre os insetos, vêm sendo apontados como os principais agentes que afetam a diversidade e abundância de polinizadores nas áreas de cultivos (FREITAS; PINHEIRO 2010; SOARES et al., 2015). Sendo assim, tem se buscado formas alternativas de combate às pragas agrícolas, que possam ser efetivas contra os insetos nocivos à lavoura, mas inócuo ou de pouco impacto à fauna não-alvo, como os polinizadores.

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma espécie originária do Brasil, hoje cultivada em várias regiões de clima tropical do planeta. Até a década de 1970, essa espécie era plantada em pequenas áreas e considerada uma planta pouco atacada por pragas. Entretanto, a partir do aumento da área cultivada, da adoção de práticas de monocultura e do adensamento das plantas, ela se mostrou susceptível a pragas, como insetos e ácaros, que podem causar severas perdas econômicas (SILVA et al., 2008; BRAGA SOBRINHO et al., 2012). O controle das pragas do cajueiro utilizando pesticidas tradicionais, além dos problemas normalmente associados a esses produtos, como a contaminação de pessoas e do meio ambiente e mortandade da fauna não-alvo, afeta também as abelhas, principais polinizadoras do cajueiro (FREITAS; PAXTON, 1998), podendo comprometer a produtividade do cultivo. No que se refere à abelha melífera (*Apis mellifera*) especificamente, soma-se a isso a contaminação potencial do mel produzido nas áreas tratadas (KOUL et al., 2008;).

Dentro desse contexto, o interesse na busca de substâncias que apresentem menor

risco à saúde humana e ao ambiente tem crescido recentemente. Nessa linha de pensamento, e entre várias substâncias potenciais, estudos têm sido conduzidos testando a eficácia de plantas, seus constituintes e derivados como substitutos dos agroquímicos no ambiente agrícola (CORRÊA; SALGADO, 2011; XAVIER et al. 2015; LIAO et al., 2017). O uso de óleos essenciais no combate a pragas agrícolas vem sendo estudado já há algum tempo (KOUL et al., 2008; TRIPATHI et al., 2009; BRAGA SOBRINHO et al., 2012). No caso do cajueiro em particular, óleos essenciais de várias espécies de plantas e em diversas concentrações, vêm se mostrando substitutos eficazes aos pesticidas tradicionais (ISMAN, 2000; MESQUITA et al., 2008). No entanto, seus estudos têm se concentrado principalmente no efeito dos produtos sobre os insetos pragas, mas pouco investigando sobre seu potencial ação letal em insetos benéficos, especialmente polinizadores como as abelhas.

A avaliação de risco dos produtos utilizados em áreas agrícolas para os agentes polinizadores, especialmente as abelhas, segue as normas da OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) para testar o nível de toxicidade determinando a dose letal média tópica (DL_{50}) e a concentração letal média oral (CL_{50}), tendo por modelo a abelha melífera (OECD, 1988a, b). Dessa forma, o presente estudo se propôs a investigar os parâmetros toxicológicos de óleos essenciais de dez espécies vegetais que são utilizados no combate as pragas da cultura do cajueiro para o seu principal polinizador, a abelha melífera visando conhecer os níveis de segurança para uso desses produtos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Época, localização e etapas

O experimento foi conduzido de 03 de agosto a 30 dezembro de 2016 na Universidade Federal do Ceará e Embrapa Agroindústria Tropical, ambas em Fortaleza, Ceará, Brasil, e constou de três etapas: obtenção dos óleos vegetais, seleção e coleta das abelhas, determinação da DL_{50} média tópica e determinação da CL_{50} média por ingestão.

3.2. Obtenção dos Óleos Essenciais

A obtenção dos óleos essenciais utilizados no experimento constou da coleta no Horto de Plantas Medicinais da Embrapa de dez espécies vegetais cujos óleos essenciais são

utilizados no combate a pragas do cajueiro, a saber: *Cymbopogon citratus* (Capim-limão), *Cymbopogon winterianus* (Cintronela), *Foeniculum vulgare* (Erva doce), *Lippia alba* (Erva-cidreira), *Lippia sidoides* (Alecrim-pimenta), *Mentha arvensis* L. (Menta-japonesa), *Ocimum basilicum* L. (Manjeriçã-branco), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo), *Ocimum micranthum* Willd. (Alfavaca-de-galinha), e *Ocimum selloi* Benth (Elixir paregórico). Estas plantas também foram depositadas no Herbário Prisco Bezerra (EAC) na Universidade Federal do Ceará (Tabela 1).

Tabela 1 – Registros dos depósitos das espécies vegetais estudadas no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará.

| Família | Nome Científico | Nome Comum | Nº |
|----------------|--|---------------------|-----------|
| Verbenaceae | <i>Lippia alba</i> (Mill) N. E. Br | Erva-cidreira | 58820 |
| Lamiaceae | <i>Mentha arvensis</i> L. | Menta-japonesa | 58821 |
| Poaceae | <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) STAPF | Capim-limão | 58822 |
| Poaceae | <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowittex Bor | Cintronela | 58823 |
| Lamiaceae | <i>Ocimum micranthum</i> Willd. | Alfavaca-de-galinha | 58824 |
| Lamiaceae | <i>Ocimum gratissimum</i> L. | Alfavaca | 58825 |
| Lamiaceae | <i>Ocimum selloi</i> Benth. | Elixir paregórico | 58826 |
| Lamiaceae | <i>Ocimum basilicum</i> L. | Manjeriçã-branco | 58827 |

As plantas foram em seguida levadas ao Laboratório Multiusuário de Química e Produtos Naturais da Embrapa de Agroindústria Tropical, onde cada espécie vegetal foi submetida ao beneficiamento: retiradas das folhas manualmente do caule de cada planta; em seguida as folhas foram pesadas e divididas em lotes de 300g de folhas frescas e, então, foram colocadas em quatro balões volumétricos (3 L). A seguir, foi acrescentado 1,5L de água destilada em cada recipiente, e logo após esses balões foram colocados em mantas aquecedoras (100°C), conectadas a condensadores para serem extraídos os óleos essenciais, através do método de hidrodestilação por arraste a vapor d'água com a ajuda do aparelho Clevenger. A duração de cada extração era de cerca de quatro horas. Após esse tempo, o óleo era retirado com o auxílio de um tubo de centrífuga e quantificado conforme volume de óleo obtido em mL usando-se uma proveta graduada. Então ele era centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm/10min. a fim de promover a separação da água e do óleo. Terminada essa etapa, era acrescentado sulfato de sódio nos tubos de centrífuga para garantir que não ficassem resíduos de água no óleo e os tubos eram centrifugados mais uma vez, e a operação era repetida ainda outra vez. Por último

o óleo era transferido para um vidro escuro com tampa para melhor armazenar (Figura 1).

Figura 1 – Coleta das plantas no Horto de Plantas Medicinais, beneficiamento desse material e extração dos óleos essenciais no Laboratório Multiusuário de Química e Produtos Naturais da Embrapa de Agroindústria Tropical.



Fonte: Natália Brito

3.3. Material Biológico

As abelhas utilizadas no experimento eram operárias adultas de abelhas melíferas (*Apis mellifera*) coletadas em um recipiente de vidro com tampa diretamente da área central do ninho de colônias mantidas em colmeias Langstroth. As colônias fazem parte do apiário do Setor de Abelhas do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici. Imediatamente após a coleta, as abelhas eram conduzidas ao Laboratório de Abelhas da mesma instituição, onde eram anestesiadas a baixas temperaturas antes da distribuição nos potes experimentais e suas recuperações para iniciar os testes de determinação da dose letal média tóxica (DL₅₀).

3.4. Determinação (DL₅₀) média tóxica e a (CL₅₀) média por ingestão.

A dose letal média tóxica (DL₅₀) expressa o grau de toxicidade aguda de substâncias químicas, e corresponde à dose suficiente para matar 50% dos animais de um lote utilizados num experimento. Portanto, para determinar a DL₅₀ de cada óleo essencial do presente estudo,

foi utilizado o método adotado internacionalmente preconizado pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 1998a) e que usa como modelo a abelha melífera (*A. mellifera*). A única diferença de procedimento diz respeito à anestesia das abelhas, pois enquanto no protocolo é recomendado que esse procedimento seja realizado utilizando dióxido de carbono ou nitrogênio, no presente trabalho a anestesia foi realizada por resfriamento.

Devido ao número de óleos essenciais (10), tratamentos (7), repetições (3) e abelhas por repetição (10) usados, apenas um óleo era testado a cada dia. Enquanto as abelhas eram anestesiadas por resfriamento em um freezer a uma temperatura de 2° C por 15 minutos, o óleo essencial a ser testado e que fora extraído de uma das dez espécies vegetais descritas anteriormente, era diluído em água destilada a fim de obter as concentrações a serem testadas (0,125% / 0,25% / 0,5% / 1,0% / 2,0% / 4,0% / 8,0%). Quando as abelhas já se encontravam anestesiadas, paradas ou com movimentos muito lentos, cada uma recebeu, por meio de uma micropipeta monocanal de volume variável, um 1µL da solução do seu respectivo óleo e concentração, aplicado na região do pronoto. A exceção foram as abelhas do grupo controle que receberam 1µL de água destilada.

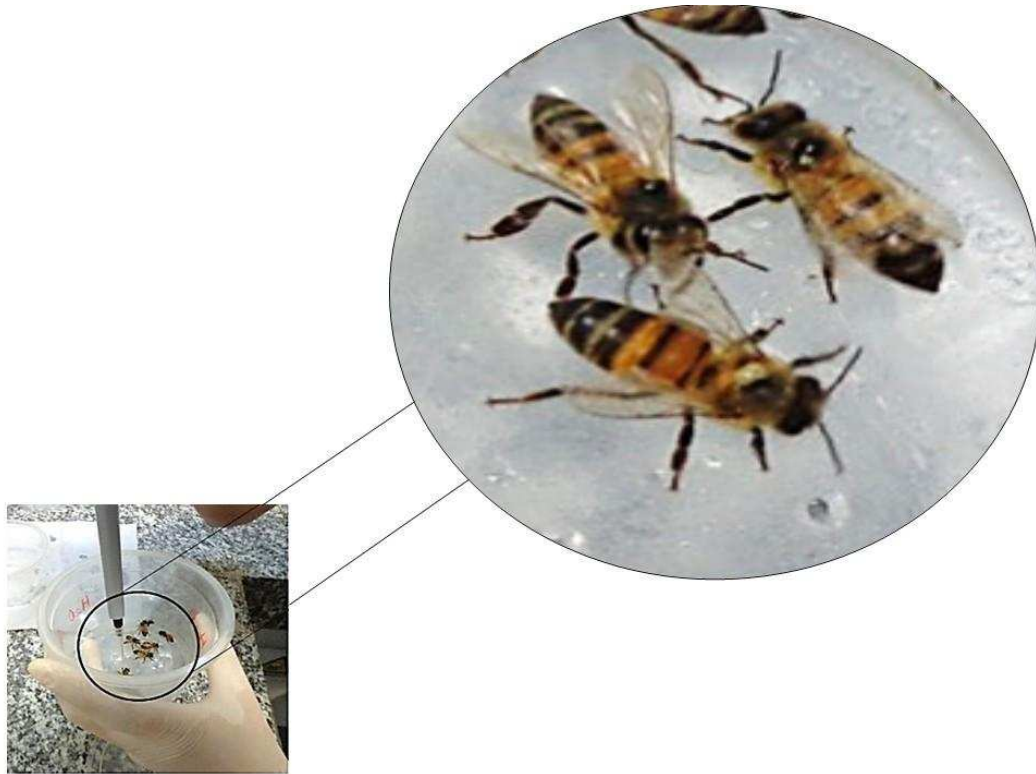
Cada tratamento (concentração) constou de 30 abelhas que, após serem expostas ao produto, eram acondicionadas em potes plásticos de 250 mL e colocadas dentro de uma B.O.D. (demanda bioquímica de oxigênio) com suprimento de água e alimento sem contaminação *ad libidum*, por meio de tubos do tipo *ependorf*. A temperatura e umidade relativa do ar dentro do B.O.D. foram mantidas em $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 10\%$, respectivamente, durante todo o experimento.

Figura 2 – Abelhas acondicionadas em potes plásticos de 250 mL e divididas por tratamentos dentro da BOD (demanda bioquímica de oxigênio).



Fonte: Natália Brito

Figura 3 – Aplicação de óleo essencial no pronoto da abelha por meio de uma micropipeta para determinação da dose letal média tóxica (DL₅₀).



Fonte: Natália Brito

A concentração letal média via oral (CL₅₀) de uma substância, que expressa o grau de toxicidade aguda de substâncias químicas, corresponde à concentração suficiente para matar 50% dos animais de um lote, utilizados em um experimento. Portanto, para determinar a CL₅₀ de cada óleo essencial, também foi utilizado o método adotado internacionalmente preconizado pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 1998b) e que usa como modelo a abelha *A. mellifera*. O procedimento utilizado foi semelhante àquele para determinar a DL₅₀ descrito anteriormente, exceto que as abelhas após anestesiadas foram colocadas em seus respectivos potes plásticos de 250 mL com oferta de água em tubos do tipo *eppendorf* e colocadas para jejuar por 2h no BOD, em condições semelhantes às descritas anteriormente. Após esse período, cada pote plástico recebeu uma solução de água e sacarose (50% v: m) contaminada com a concentração do óleo a ser testada naquele tratamento, exceto o grupo controle que recebeu apenas a solução sem qualquer contaminante.

Após encerrar os ensaios com todos os óleos e respectivas concentrações, a determinação da dose letal média por contato (DL₅₀) e a concentração letal média via oral (CL₅₀) de cada um deles foi feita, contabilizando o número de abelhas mortas em cada tratamento à 1h, 6h, 12h, 24, 36h e 48h horas após o oferecimento do alimento contaminado. Esses dados foram analisados através de um modelo log-logístico com o auxílio do “drc” (RITZ et al., 2015)

presente no ambiente estatístico R (R Core Team, 2016). Uma vez elaborados, os modelos, foram calculados a DL₅₀ a CL₅₀ e seus respectivos intervalos de confiança (95%).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade das abelhas *A. mellifera* submetidas à aplicação tópica permitiu determinar a DL₅₀ (Tabela 2). A mortalidade das abelhas obtida por meio da DL₅₀ foi diferenciada de acordo com os óleos essenciais e as concentrações utilizadas. No entanto, embora a toxidez dos diferentes óleos essenciais tenha variado entre as espécies vegetais, todos apresentaram ações tóxicas para *A. mellifera*, independentemente da concentração no tempo de aferição até 48 h. Além disso, invariavelmente as abelhas precisaram de doses bem maiores para atingir 50% de mortalidade às 24 h do que às 48 h. Assim, embora doses menores possam parecer mais seguras por não matar metade da população testada nas primeiras 24 h, elas acabaram por matar esse mesmo percentual até 48 h após a exposição.

Tabela 2 – Toxicidade aguda tópica em 24 e 48 horas para abelhas operárias de *Apis mellifera* de óleos essenciais de dez espécies vegetais usados no combate a pragas da cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale*).

| Óleos vegetais | Tempo de exposição (h) | DL ₅₀ (%) | I.C. (95%) | |
|-------------------------------|------------------------|----------------------|------------|----------|
| | | | Superior | Inferior |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 24 | 1.204 | 0.836 | 1.572 |
| | 48 | 0.518 | 0.347 | 0.690 |
| <i>Cymbopogon winterianus</i> | 24 | 1.592 | 0.746 | 2.438 |
| | 48 | 0.254 | 0.195 | 0.312 |
| <i>Foeniculum vulgare</i> | 24 | 3.196 | 2.112 | 4.280 |
| | 48 | 0.495 | 0.310 | 0.680 |
| <i>Lippia alba</i> | 24 | 1.459 | 0.871 | 2.046 |
| | 48 | 0.387 | 0.291 | 0.483 |
| <i>Lippia sidoides</i> | 24 | 2.039 | 1.582 | 2.046 |
| | 48 | 1.416 | 1.159 | 1.672 |
| <i>Mentha arvensis</i> | 24 | 1.893 | 1.302 | 2.484 |
| | 48 | 0.676 | 0.503 | 0.848 |
| <i>Ocimum basilicum</i> | 24 | 2.165 | 1.535 | 2.799 |
| | 48 | 1.000 | 0.625 | 1.375 |
| <i>Ocimum gratissimum</i> | 24 | 1.114 | 0.763 | 1.466 |
| | 48 | 0.476 | 0.352 | 0.601 |
| <i>Ocimum micranthum</i> | 24 | 3.780 | 2.183 | 5.376 |
| | 48 | 0.538 | 0.396 | 0.680 |
| <i>Ocimum selloi</i> | 24 | 2.191 | 1.374 | 3.009 |
| | 48 | 0.749 | 0.566 | 0.931 |

(DL₅₀) dose letal média; (IC_{95%}) intervalo de confiança a 95%.

Os óleos essenciais com os menores valores médios de DL₅₀ foram das espécies *C. winterianus* (0,254%) e *L. alba* (0,387%), que apresentaram intervalos de confiança inferiores

(0,195 e 0,291, respectivamente), com mortalidade de 50% da população (Tabela 2).

A alimentação das operárias de *A. mellifera* com xarope de açúcar contaminado com as diferentes concentrações dos óleos essenciais testados possibilitou determinar a CL₅₀ (Tabela 2). A mortalidade, de acordo com a CL₅₀, foi diferenciada em função dos óleos essenciais de cada espécie vegetal e das concentrações. Como observado para a DL₅₀, todas as concentrações também foram tóxicas para as abelhas e foram necessárias concentrações maiores para atingir 50% de mortalidade às 24 h do que às 48 h. No entanto, o óleo essencial de *M. arvensis* destacou-se dos demais por ter sido extremamente tóxico às 24 h em concentração muito mais baixa (0,516%) do que os demais óleos essenciais. O óleo essencial de *O. gratissimum* apresentou o segundo valor mais tóxico para as abelhas quando comparado aos demais (Tabela 3).

Tabela 3. Toxicidade aguda oral de óleos essenciais de dez espécies vegetais em abelhas operárias *Apis mellifera* em 24 e 48 horas.

| Óleos vegetais | Tempo de exposição (h) | CL ₅₀ (%) | I.C. (95%) | |
|-------------------------------|------------------------|----------------------|------------|----------|
| | | | Superior | Inferior |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 24 | 2.081 | 1.626 | 2.536 |
| | 48 | 0.564 | 0.347 | 0.781 |
| <i>Cymbopogon winterianus</i> | 24 | 1.456 | 1.146 | 1.766 |
| | 48 | 0.489 | 0.413 | 0.564 |
| <i>Foeniculum vulgare</i> | 24 | 1.664 | 1.377 | 1.952 |
| | 48 | 1.321 | 1.071 | 1.571 |
| <i>Lippia alba</i> | 24 | 2.135 | 1.661 | 2.610 |
| | 48 | 0.871 | 0.585 | 1.157 |
| <i>Lippia sidoides</i> | 24 | 1.667 | 1.354 | 1.979 |
| | 48 | 0.668 | 0.484 | 0.852 |
| <i>Mentha arvensis</i> | 24 | 0.516 | 0.381 | 0.651 |
| | 48 | 0.398 | 0.312 | 0.483 |
| <i>Ocimum basilicum</i> | 24 | 1.482 | 1.219 | 1.746 |
| | 48 | 0.702 | 0.550 | 0.855 |
| <i>Ocimum gratissimum</i> | 24 | 0.928 | 0.305 | 1.552 |
| | 48 | 0.525 | 0.322 | 0.727 |
| <i>Ocimum micranthum</i> | 24 | 1.604 | 1.249 | 1.959 |
| | 48 | 0.723 | 0.586 | 0.860 |
| <i>Ocimum selloi</i> | 24h | 1.293 | 1.028 | 1.558 |
| | 48h | 0.544 | 0.390 | 0.697 |

(CL₅₀) concentração letal média; (IC_{95%}) intervalo de confiança 95%.

De um modo geral, os óleos essenciais mostraram-se mais tóxicos por via oral do que tópica (Tabelas 2 e 3). Esse padrão é o mesmo observado em estudos com inseticidas sintéticos e provavelmente se deve ao fato de que a dosagem tópica é aplicada apenas uma vez, enquanto na oral as abelhas têm acesso livre ao alimento contaminado, podendo se contaminarem repetidamente e com quantidades bem maiores do produto testado do que no tratamento tópico (Del Sarto et al., 2014; Gurgel, 2015; Jiménez; Cure, 2016). No presente estudo, as maiores concentrações testadas chegaram a apresentar mortalidade de 100% dos indivíduos.

No entanto, o óleo essencial de *L. alba* apresentou comportamento inverso, tendo sido mais tóxico para as abelhas por contato do que por ingestão, tanto às 24 h (1,459 e 2,135%) quanto às 48 h (0,387 e 0,871%), respectivamente. Já os óleos essenciais de *C. winterianus* e *F. vulgare* apresentaram-se mais tóxicos às 48 h para o tratamento tópico (0,254 e 0,495%) do que ingestão oral (0,489 e 1,321%), respectivamente. Às 24 h, estes mesmos óleos essenciais foram mais tóxicos às abelhas em tratamento oral do que em tratamento tópico (Tabelas 2 e 3). Alguns óleos essenciais apresentam efeito de repelência para insetos (Paula et al., 2004; Cansian et al., 2015; Guo et al., 2016), inclusive para abelhas, e têm sido estudados com esse propósito (Fávero, 2014; Naik et al., 2015). Para os resultados apresentados aqui, os óleos citados acima apresentaram provavelmente um efeito de repelência, contrariando a maioria dos óleos essenciais, que foram mais tóxicos por ingestão oral dos produtos.

O óleo essencial que se mostrou com maior toxicidade às operárias de *A. mellifera* foi o de *O. micranthum*, em função do maior ângulo obtido pela equação de regressão (Tabela 4), comportando-se assim como o mais tóxico de todos os óleos testados ao causar rapidamente a mortalidade de 50% dos indivíduos da população. Quanto maior a inclinação do ângulo, mais rápida foi a mortalidade de 50% das abelhas avaliadas na menor concentração de óleo essencial aplicada. Conforme os resultados da análise estatística, o óleo essencial que demonstrou menor toxicidade às abelhas foi o óleo extraído da espécie *O. selloi*, comumente conhecido como elixir paregórico (Tabela 3). Os óleos essenciais das espécies *C. citratus*, *C. winterianus* e *O. gratissimum*, em aplicações tópicas, causaram mortalidade severa nas abelhas a partir da dose de 0,5%. Entretanto, o óleo essencial da espécie *L. alba* apresentou mortalidade nas abelhas já na concentração 0,25%.

Tabela 4. Modelos de regressão Log-logistic do grau de toxicidade por ingestão de dez óleos essenciais em operárias de *Apis mellifera*.

| Óleos | $Y = Y_0 + ax + bx^2$ | F | R ² | P |
|-----------------------|--------------------------------|--------|----------------|--------|
| <i>C. citratus</i> | $0,81 + 350,82x - 2979,65x^2$ | 337,13 | 0,91** | 0,0031 |
| <i>C. winterianus</i> | $3,95 + 219,91x - 1830,68x^2$ | 150,07 | 0,82* | 0,0138 |
| <i>F. vulgare</i> | $2,06 + 196,49x - 1366,86x^2$ | 145,22 | 0,97** | 0,0002 |
| <i>L. alba</i> | $4,29 + 201,74x - 1653,20x^2$ | 140,23 | 0,81* | 0,0156 |
| <i>L. sidoides</i> | $-0,68 + 377,9x - 3068,52x^2$ | 673,68 | 0,95** | 0,0008 |
| <i>M. arvensis</i> | $-0,15 + 368,54x - 3212,76x^2$ | 23,69 | 0,88** | 0,0061 |
| <i>O. basilicum</i> | $1,62 + 258,82x - 1929,39x^2$ | 16,54 | 0,83* | 0,0116 |
| <i>O. gratissimum</i> | $3,67 + 231,08x - 1926,08x^2$ | 22,27 | 0,87** | 0,0068 |
| <i>O. micranthum</i> | $0,09 + 398,33x - 3621,33x^2$ | 29,45 | 0,90** | 0,0040 |
| <i>O. selloi</i> | $0,45 + 113,4x - 256,01x^2$ | 31,86 | 0,91** | 0,0035 |

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F; *Significância ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Confirmando o efeito dos óleos essenciais sobre abelhas, Xavier (2009) afirmou que grande parte dos inseticidas à base de óleos essenciais causou repelência aos adultos de *A. mellifera*. Já o óleo de citronela (*C. winterianus*) foi tóxico para larvas de abelhas. Sobre a complexidade do efeito de inseticidas à base de óleos essenciais no controle de insetos, Cintra et al. (2002) constataram que eles podem ser tão deletérios aos insetos quanto os inseticidas sintéticos. Todos os óleos essenciais testados mostraram-se tóxicos para as operárias de *Apis mellifera*, tanto por contato como por ingestão, as 24 e 48h. Nessas circunstâncias o uso desses produtos não é seguro aos polinizadores, e seu uso só deve ser feito tomando-se os mesmos cuidados recomendados para os demais pesticidas. No entanto, estudos realizados com óleos essenciais tanto para atrair enxames de abelhas *A. mellifera* (LEOPOLDINO et al. 2002) como para combater o ácaro parasita *Varroa destructor* (EBERT et al., 2007; DAMIANI et al., 2009; CASTAGNINO; ORSI, 2012) têm identificado espécies vegetais cujos óleos apresentam baixa ou nenhuma toxicidade para as abelhas, tanto por via de contato como oral. Portanto, essas e outras espécies vegetais devem ser testadas no controle de pragas do cajueiro e outros cultivos, simultaneamente a avaliação de risco para as abelhas.

5 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais utilizados no combate as às pragas da cultura do cajueiro testados no presente trabalho apresentaram toxicidade para as operárias de abelhas melíferas em todas as concentrações e formas utilizadas.

Os óleos essenciais testados no presente trabalho não podem ser considerados seguros na presença desses insetos polinizadores.

Não é recomendado a utilização dos óleos essenciais no combate às pragas do cajueiro nas dosagens estudadas, a não ser que sejam tomadas medidas de manejo capazes de evitar a exposição por contato ou oral das abelhas melíferas esses produtos fitossanitários.

Mais estudos com outras dosagens e óleos essenciais de outras espécies vegetais usadas no controle às pragas do cajueiro devem ser testados em adultos de abelhas melíferas assim como em suas larvas, tendo em vista do risco de levar alimento contaminado para colônias. Isso visará a obtenção de um produto seguro a esses organismos não-alvo.

REFERÊNCIAS

- BERNAL, J; MARTIN-HERNANDEZ, R; DIEGO, J. C; NOZAL, M. J; GONZALEZ-PORTO, A. V; BERNAL, J. L; HIGES, M. An exposure study to assess the potential impact of fipronil in treated sunflower seeds on honey bee colony losses in Spain. **Pest Management Science**. 67:1320–1331, 2011.
- BROWN, J. C; OLIVEIRA, M. L. **The impact of agricultural colonization and deforestation on stingless bee (Apidae: Meliponini) composition and richness in Rondônia, Brazil**. *Apidologie*. 2014.
- CANSIAN, R. L; ASTOLFI, V; CARDOSO, R. I; PAROUL, N; ROMAN, S. S; MIELNICZKI-PEREIRA, A. A; PAULETTI, G. F; MOSSI, A. J. Insecticidal and repellent activity of the essential oil of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Y. Fujita (Ho-Sho) and *Cinnamomum camphora* (L.) J Presl. var. *hosyo* (Hon-Sho) on *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae). 10.1590/1983-084X/14_074. **Revista Brasileira**. Campinas, v.17, n.4, supl. I, p.769-773, 2015. DOI
- CASTAGNINO, G. L. B; ORSI, R. O. Produtos naturais para o controle do ácaro Varroa destructor em abelhas africanizadas. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.47, n.6, p.738-744, jun. 2012.
- CASTRO, H. G. de; FERREIRA, F. A; SILVA, D. J. H. da; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2001. 104 p.
- CAVALCANTI, J. J. V; BARROS, L. M. Avanços, desafios e novas estratégias do melhoramento do cajueiro no Brasil. *In*: 1 Simpósio Nordeste de Genética e Melhoramento de Plantas. **Anais [...]**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 83-101 p.
- CINTRA, P; MALSPINA, O; PETACCI, F; FERNANDES, J. B; BUENO, O. C; VIEIRA, P. C; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 1, p.115-118. 2002.
- CORBET, S. A; INGRID, H. W; OSBORNE, J. L. **Bees and the Pollination of Crops and Wild Flowers in the European Community**. *Bee World*, v. 72 (2): 47–59. doi:10.1080/0005772X.1991.11099079, 1991.
- CORRÊA, J. C. R; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.500-506, 2011.
- CORSO, I. C; GONÇALVES, S. **Avaliação da toxidez de inseticidas químicos para *Apis mellifera* L.** *In*: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 4, 1984, Londrina. Resultados de pesquisa de girassol: anais. 1984. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1984. p. 37- 41.
- CRUZ, A. D; et al. Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the

midgut of worker honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae. **Cell Biology and Toxicology**, v.26, n.2, p.165- 176, 2010.

DAMIANI, N; GENDE, L. B; BAILAC, P; MARCANGELI, J. A; EGUARAS, M. J. **Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. *Parasitol Res* 106:145–152. 2009.

DAMODARAN, V. K; VILASACHAN, Y; VALSALAKUMARI, P. K. **Research on cashew in India**. Technical Bulletin, p. 10-35. 1979.

DECOURTYE, A; ARMENGAUD, C; RENO, M; DEVILLERS, J; CRUZEAU, S; GAUTHIER, M; PHAM-DELEGUE, M. H. Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.) **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 78: 83-92, 2004.

DECOURTYE, A; HENRY, M; DESNEUX, N. **Overhaul pesticide testing on bees**. *Nature* 497, 188, 2013.

DEL SARTO, M. C. L; OLIVEIRA, E. E; GUEDES, R. N. C; CAMPOS, L.A.O. Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. **Apidologie**, 45:626–636. 2014. doi: 10.1007/s13592-014-0281-6.

DEVILLERS, J; DECOURTYE, A; BUDZINSKI, H; PHAM-DELÈGUE, M. H; CLUZEAU, S; MAURIN, G. Comparative toxicity and hazards of pesticides to *Apis* and non-*Apis* bees. A chemometrical study. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v.14, p.389-403, 2003.

EBERT, T. A; KEVAN, P. G; BISHOP, B. L; KEVAN, S. D; DOWNER, R. A. Oral toxicity of essential oils and organic acids fed to honeybees (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research and Bee World** 46(4): 220–224. 2007.

EL HASSANI, A; K, DACHER; GAUTHIER, M; ARMENGAUD, C. M. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Pharmacol Biochem Behav** 82: 30-39. 2005.

FAO – Food and Agriculture Organization the Units Nations. **Statistical Production. Crops Primary**. Rome. *In*: FAOSTAT. FAO statistical data bases: Cantidad de producción. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>>.15 maio 2013.

FÁVERO, R. **Estudo de repelência com diversos produtos de origem natural em operárias de *Apis mellifera* em semi-campo**. Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. Rio Claro, 2014. 46 pp.

FREE, J. B. **Insect Pollination of Crops**, 2nd ed. Cardiff: University Press. 1993. 684p.

FREITAS, B. M. Beekeeping and cashew in north-eastern Brazil: The balance of honey and nut production. **Bee World**, v. 75, p. 160-168. 1994.

FREITAS, Breno M. Uso de programas racionais de polinização em áreas agrícolas. **Mensagem doce**, v. 46, p. 1-6, 1998.

FREITAS, B. M; PAXTON, R. J. The role of wind and insects in cashew (*Anacardium occidentale*) pollination in NE Brazil. **The Journal of Agricultural Science**, v.126, p. 319-326. 1996.

FREITAS, B. M; PAXTON, R. J. A comparison of two pollinators: the introduced honey bee *Apis mellifera* and an indigenous bee *Centris tarsata* on cashew *Anacardium occidentale* in its native range of NE Brazil. **Journal of Applied Ecology** 35:109-121. 1998.

FREITAS, B. M. **A vida das abelhas Fortaleza**: UFC: Craveiro & Craveiro, 1999. CD-ROM.

FREITAS, B. M. **Projeto de pesquisa**: rede de pesquisa dos polinizadores da cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Brasil. Fortaleza, 2009. 93p.

FREITAS, B. M; IMPERATRIZ-FONSECA; V. L; MEDINA, L. M; KLEINERT, A. M. P; GALETTO, L; NATES-PARRA, G; QUEZADA-EUÁN, J. J. G. **Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics**. *Apidologie* 40: 332–346. 2009. doi 10.1051/apido/2009012.

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. et al. Forest remnants enhance wild pollinator visits to cashew flowers and mitigate pollination deficit in NE Brazil. **Journal of Pollination Ecology**, v. 12, n. 4, p. 22-30, 2014.

GARIBALDI, L. A; CARVALHEIRO, L. G; VAISSIÈRE, B. E; GEMMILL-HERREN, B; HIPÓLITO, FREITAS; J. B. et al. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. **Science**, 351: 388-391. 2016.

GIANNINI, T. C. et al. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, p. tov093, 2015.

GILL, R. J; RAMOS-RODRIGUEZ, O; RAINE, N. E. Combined pesticide exposure severely affects individual – and colony – levels traits in bees. **Nature**, v.491, p.105-109, 2012.

GIONGO, A. M. M; VENDRAMIM, J. D; FREITAS, S. D. L; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of Secondary Metabolites from Meliaceae Against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 45, p. 725-733, 2016.

GONÇALVES, M. E. de C; BLEICHER, E. Uso de extratos aquosos de nim e azadirachina via sistema radicular para o controle da mosca-branca em meloeiro. **Ciência Agrônômica**, v. 37,

n. 2 p. 37-41. 2006.

GUANZIROLI, C. E; SOUZA, H. M; VALENTE JÚNIOR, A. S; BASCO, C. A. Entraves ao desenvolvimento da cajucultura no Nordeste: margens de comercialização ou aumentos de produtividade e de escala? **Revista Extensão Rural**, v. 16, n. 18, p. 96-122, jul./dez. 2009.

GUO, S; ZHANG, W; LIANG, J; YOU, C; GENG, Z; WANG, C; DU, S. Contact and Repellent Activities of the Essential Oil from *Juniperus formosana* against Two Stored Product Insects. **Molecules**, 21, 504; 2016. doi:10.3390/molecules21040504.

GURGEL, L. S. **Estabelecimento de parâmetros toxicológicos imidacloprido, para as abelhas sem Ferrão *Scaptotrigona* sp. nov.** Orientador: Breno Magalhães Freitas.,2015. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2015.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Oxiford, v.19, p.603-608, 2000.

JAFFÉ, Rodolfo et al. Beekeeping practices and geographic distance, not land use, drive gene flow across tropical bees. **Molecular Ecology**, v. 25, n. 21, p. 5345-5358, 2016.

JIMÉNEZ, D. R; CURE, J. R. Efecto letal agudo de los insecticidas en formulación comercial Imidacloprid, Spinosad y Thiocyclam hidrogenoxalato en obreras *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apidae). **Revista de Biología Tropical** 64: 1-9. 2016

KIM, S. I; ROH, Y. J; KIM, D. H; LEE, H. S. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.293-303, 2003.

KOUL, O; WALIA, S; DHALIWAL, G.S. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopestic. Int.** 4(1): 63–84. 2008.

KWEKA, E. J; MOSHA, F; LOWASSA, A; MAHANDE, A. M; KITAU, J; MATOWO, J; MAHANDE, M. J; MASSENGA, C. P; TENU, F; FESTON, E; LYATUU, E. E; MBOYA, M.A; MNDEME, R; CHUWA, G; TEMU, E. A. Ethnobotanical study of some of mosquito repellent plants in north-eastern Tanzania. **Malaria journal**, 7. P. 152. ISSN 1475-2875, 2008.

LAMBERTH, C; JEANMART, S; LUKSCH, T; PLANT, A. Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals. **Science**, 341:742-746, 2013.

LAURENT, M; HENDRIKX, P; RIBIERE-CHABERT, M; CHAUZAT, M. **P. A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2014.** 2015. Available at: Available at: http://ec.europa.eu/food/animals/live_animals/bees/docs/bee-report_2012_2014_en.pdf. Accessed on: 28 Aug. 2015.

LEBUHN, G; DROEGE, S; CONNOR, E. F; GEMMILL-HERREN, B; POTTS, S. G; MINCKLEY, R. L; GRISWOLD, T; JEAN, R; KULA, E; ROUBIK, D. W. et al. Detecting insect pollinator declines on regional and global scales. **Conserv. Biol.** 27: 113–120. 2013.

LEE, B.H.; CHOI, W.S.; LEE, S.E.; PARK, B.S. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). **Crop Protection**, Washington, v.20, n.4, p.317-320, 2001.

LEOPOLDINO, M. L; FREITAS, B. M; SOUSA, R. M; PAULINO, F. D. G. Avaliação do feromônio de nasonov sintético e óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) como atrativos para enxames de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*). **Ciência Animal**, 12(1)19-23, 2002.

LIAO, M; XIAO, J.J; ZHOU, L.J; YAO, X; TAN, F; TANG, R. M; HUA, X. W; CAO, H. Q. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on the *Helicoverpa armigera*. **Journal of Applied Entomology**. 2017;1–8. DOI: 10.11/jen.12397.

LOPES, R. D. **Manejo agrícola e seus impactos em agroecossistemas indígenas: a situação dos Tremembé de Queimadas**. In: 15 Encontro de Ciências Sociais do Norte e Nordeste – Pré-alegas Brasil. 2012.

MELO, G. A. R; AGUIAR, A. P; GARCETE-BARRETT, B. RAFAEL, J. A; MELO, G. A. R; CARVALHO, C. J. B. de; CASARI, S. A; CONSTANTINO, R. (Ed.). **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2012. p. 553-612.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 58p. 2005.

MENEZES, E. L. A; SOUZA, S. A; LIMA-Filho, M; BARROS, H. C; FERRARA, F. A; MENEZES, E. B. Análise faunística de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) nas regiões Norte e Noroeste do estado do Rio de Janeiro. **Neotropical Entomology**, 37, 8-14. 2008.

MESQUITA, A. L. M; OLIVEIRA, V. H. de; BRAGA SOBRINHO, R; ELOI, W.M; INNECCO, R; MATOS, S. H. **Controle da traça-da-castanha com produtos à base de óleos essenciais e hidrolatos**. Fortaleza, CE. Embrapa Agroindústria Tropical. 3p. (Comunicado Técnico, 135). 2008.

MESQUITA, A. L. M; OLIVEIRA, V. H; CAVALCANTE, R. R. R. **Manejo integrado de pragas**. In: OLIVEIRA, V. H. de; COSTA, V. S. de O. (Ed.). Manual de produção integrada de caju. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. p. 198-225.

MICHENER, C. D. **The bees of the world**. Estados Unidos, Johns Hopkins University Press, 2007.

MORANDIN, L. A; WINSTON, M. L. Wild Bee Abundance And Seed Production In Conventional, Organic, And Genetically Modified Canola. **Ecological Applications**, 15: 871- 881, 2005.

MULLIN, C; FRAZIER, M; FRAZIER, J; ASHCRAFT, S; SIMONDS, R., VANENGELSDORP, D., PETTIS, J.S. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. **Plos One** 5(3), e9754, 2010.

NAIK, D. G; VAIDYA-KANNUR, H; DESHPANDE, P. V; DANDGE, C. N; REDDY, G. V. P. Potential Use of an Essential Oil From the Flower of *Swertia densifolia* as a Repellent for *Apis florea* (Hymenoptera: Apidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** 1–8. 2015; DOI: 10.1093/aesa/sau005.

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. Honeybees, **Acute Contact Toxicity Test**, n. 214, set. 1998a. 7p.

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, SECTION 2, EFFECTS ON BIOTIC SYSTEMS. Honeybees, **Acute Contact Toxicity Test**, n. 213, set. 1998a. 8p.

OGENDO, J. O; KOSTYUKOVSKY, M; RAVID, U; MATASYOH, J. C; DENG, A. L; OMOLO, E. O; KARIUKI, S. T; SHAYYA, E. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L oil and two constituents against five insect pests attacking stored food products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 328-334, 2008.

OLLERTON, J; WINFREE, R; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos** 120: 321–26, 2011.

OLIVEIRA, F. F; RICHERS, B. T. T; SILVA, J. R; FARIAS, R. C; MATOS, T. A. de L. **Guia Ilustrado das Abelhas “Sem-Ferrão” das Reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Tefé: IDSM, 2013. 267 p.

ORTH, A. L. et al. **Manejo da polinização e o problema da diminuição da população de abelhas domésticas**. Agropecuária Catarinense. 2012. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/10301/pdf>.

PAREJA, L; COLAZZO, M; PÉREZ-PARADA, A; NIELL, S; CARRASCO-LETELIER, L; BESIL, N; CESIO, M. V; HEINZEN, H. Detection of Pesticides in Active and Depopulated Beehives in Uruguay. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2011.

PASIN, L. E. V. Análise da Produção de Mel Natural no Brasil no Período de 1999 a 2010. **Revista Agroalimentaria**. v. 18, n. 34; junho, 2012 (29-42).

PAULA PESSOA, P. F. A. de; LEITE, L. A. de S; PIMENTEL, C. R. M. **Situação atual e perspectivas da agroindústria do caju**. In: ARAÚJO, J.P.P. de; SILVA, V.V. da. (Org.). *Cajucultura: modernas técnicas de produção*. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1995. p. 23-42.

PAULA, J. P; FARAGO, P. V; CHECCHIA, L. E. M; HIROSE, K. M; RIBAS, J. L. C. Atividade Repelente do Óleo Essencial de *Ocimum selloi* Benth (variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas. **Acta Farm. Bonaerense** 23 (3): 376-8 (2004).

PEREIRA, A. M. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas**. 2010. 125f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

PERES, W. A. A; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Potencial do óleo de nim como inseticida

vegetal no controle dos percevejos-pragas da soja (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 1, n. 1, p. 1651-1655, 2006.

PETTIS, J. S; COLLINS, A. M; WILBANKS, R. **Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera***. *Apidologie*, v.35, n.6, p.605-601.2004.

PIRES, C. S. S. et al. 2016. **Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?** Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2016. Disponível em: <https://www.revis-tas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/10301/pdf>.

RICKETTS, T. H; REGETZ, J.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A; KREMEN, C.; BOGDANSKI, A.; GEMMILL-HERREN, B.; GREENLEAF, S. S; KLEIN, A. M; MAYFIELD, M. M; MORANDIN, L. A; OCHIENG, A; VIANA, B. F. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? **Ecology Letters**, 11: 499-515, 2008.

RITZ, C; BATY, F; STREIBIG, J. C; GERHARD, D. **Dose-Response Analysis Using R** **PLOS ONE**, 10(12) e0146021. 2015.

SANTOS, M. R. A; LIMA, R. A; SILVA, A. G; FERNANDES, C. F; LIMA, D. K; SALLET, L. A. P; TEIXEIRA, C. A. D; FACUNDO, V. A. **Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 13 p. (Embrapa Rondônia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 48)., 2007.

SILVA, P. H. S. da; CARNEIRO, J. da S; CASTRO, M. de J. P. de; LOPES, M. T. do R. **Ação biocida de óleos vegetais em ovos e ninfas da mosca-branca-do-cajuieiro e operárias de *Apis mellifera* L.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, (Embrapa Meio-Norte. Comunicado Técnico, 205). 4 p. 2008.

SILVA, M. A; BEZERRA-SILVA, G. C. D; VENDRAMIM, J. D. R; SA, I. C. G. Threshold Concentration of Limonoids (Azamax) for Preventing Infestation by Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 629-639, 2015.

SILVEIRA, A.V. T; ANTONIO S. F. N. R. Proposta de alternativas menos tóxicas para ingredientes ativos de agrotóxicos no mercado brasileiro. *Pesticidas: Revista De Ecotoxicologia e Meio Ambiente*. 23, 11 –24, 2013.

SOARES H. M; JACOB C. R. O; CARVALHO S. M; NOCELLI R. C. F; MALASPINA O. Toxicity of imidacloprid to the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera: Apidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 94:675- 680. doi 10.1007/s00128-015-1488-6, 2015.

SPADOTTO, C. A. **Abordagem Interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos**. Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar, 2006. Disponível em: < <http://www.fmr.edu.br/npi/003.pdf>>.

TAUTZ, J. The buzz about bees: Biology of a superorganism. Berlin: **Springer**. 284 p, 2008.

TINGLE C. C; ROTHER J. A; DEWHURST C. F; LAUER S; KING W. J; Fipronil

environmental fate, ecotoxicology and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology** 176:1–66, 2003.

TRIPATHI, S; ET MISHRA, H. N. Nutritional changes in powdered red pepper upon in vitro infection of *Aspergillus flavus*. **Brazil Journal of Microbiology**, 40: 139-144. 2009.

VANENGELSDORP, D; MEIXNER, M. D. A historical review of managed bee populations in Europe and United States and the factors that may affect them. **Journal of Invertebrate Pathology**, 103:S80-S95, 2010.

VANENGELSDORP, D; EVANS, J. D; SAEGERMAN, C; MULLIN, C; HAUBRUGE, E; NGUYEN, B. K; FRAZIER, M; FRAZIER, J; COXFOSTER, D; CHEN, Y; NDERWOOD, R. M.; TARPY, D. R; PETTIS, J. S. Colony Collapse Disorder: a descriptive study. **Plos One**, San Francisco, v.4, n.8, p.1-17, ago. 2009.

VIDAL, M. das G. **Inseticidas para a cultura da aboboreira (*Curcubita pepo* L. var. melopepo), toxicidade para operárias híbridas de *Apis mellifera adansonii* L.** 1988. 47 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

VILELA, E. F. Produtos naturais no manejo de pragas. In: Workshop Sobre Produtos Naturais No Controle De Pragas, Doenças E Plantas Daninhas, 1. Jaguariúna. **Anais [...]** Jaguariúna: Embrapa/CNPDA, 1990. 15-18 p.

XAVIER, V. M. **Impacto de inseticidas botânicos sobre *Apis mellifera*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera:Apidae).** 2009. 34 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

XAVIER, V. M; MESSAGE, D; PICANÇO, M.C; CHEDIAK, M; SANTANA JÚNIOR, P. A; RAMOS, R. S; MARTINS, J. Acute Toxicity and Sublethal Effects of Botanical Insecticides to Honey Bees. **Journal of Insect Science** 15(1): 137; 2015. DOI: 10.1093/jisesa/iev110.

ZHU, W.; SCHMEHL, D. R; MULLIN, C. A; FRAZIER, J. L; **Four Common Pesticides, Their Mixtures and a Formulation Solvent in the Hive Environment Have High Oral Toxicity to Honey Bee Larvae.** **Plos One** 9: e77547. doi: 10.1371/journal.pone.0077547, 2014.