

VÂNIA MARIA XAVIER

**IMPACTO DE INSETICIDAS BOTÂNICOS SOBRE *Apis mellifera*,
Nannotrigona testaceicornis E *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera:
Apidae)**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

VÂNIA MARIA XAVIER

**IMPACTO DE INSETICIDAS BOTÂNICOS SOBRE *Apis mellifera*,
Nannotrigona testaceicornis E *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera:
Apidae)**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.**

APROVADA: 16 de fevereiro de 2009.

**Prof. Marcelo Coutinho Picanço
(Co-orientador)**

**Prof. Leandro Bacci
(Co-orientador)**

Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes

**Prof. Lúcio Antônio de Oliveira
Campos**

**Prof. Dejair Message
(Orientador)**

Ao Deus que me concedeu a vida e proteção em todos os momentos;

Ofereço

Aos meus pais, José Maria e Maria Helena, pela dedicação;

Aos meus irmãos pelo incentivo e amizade;

Ao meu noivo, Júnio, pelo amor e companheirismo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Animal pela oportunidade de realização deste curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

Agradeço ao Prof. Dejair Message pela orientação, pela acolhida em seu laboratório, pela disponibilidade e atenção durante esse curso, pela contribuição na minha formação profissional, pelos ensinamentos valiosos e pela paciência.

Ao co-orientador e amigo, professor Marcelo Coutinho Picanço, pela amizade e confiança, pelos ensinamentos e pelo estímulo ao longo desses anos. À sua esposa Kátia e aos seus filhos Mayara, Luíza e Marcelo Filho, pelo agradável convívio.

Ao Prof. Leandro Bacci pela co-orientação, pela amizade, pelo apoio incondicional, pelos conselhos enriquecedores, os quais serão levados, por toda a minha vida.

Aos professores Raul Narciso Carvalho Guedes e Lúcio Antônio de Oliveira Campos, componentes da banca, pela cordialidade em aceitar o convite e pela forma como participaram.

À Christina, pelo excelente convívio e por ter me ensinado as técnicas de criação de larvas de *Apis mellifera*.

Aos amigos da pós-graduação do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, Matheus Chediak, Emerson Cristi de Barros, Flávio Lemes Fernandes, Maria Elisa de Sena Fernandes, Jardel Lopes Pereira e Júlio Cláudio Martins, pela grande amizade, convívio e companheirismo ao longo da minha vida acadêmica. Em especial, gostaria de agradecer à Elisângela e Shaiene pela amizade e pela ajuda na execução deste trabalho, ao Ézio pela ajuda na análise dos dados e ao Gerson, Jander e Mateus Campos pela ajuda na condução dos experimentos.

As amigas Jorgiane e Renata pelo companheirismo, pela ótima convivência e ajuda na condução dos bioensaios.

Aos funcionários do Apiário, Osmar, “Lulu”, Toninho, Íris, Geraldo e Ferreira, que tanto me ensinaram sobre as abelhas, pela ajuda nas coletas, o meu agradecimento,

pois o auxílio de vocês foram fundamentais neste trabalho.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Entomologia Sra. Maria Paula da Costa e à Míriam, pela amizade, seriedade e eficiência e ao funcionário Zé Evaristo pela amizade.

Aos estagiários do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, Nilson, Tarcísio, Pablo, Renan, Ricardo, Rogério, Rodrigo, Verônica, Sabrina, Janaína, Suzana, Paulo, Aelton, Adriano, Fernanda e Rômulo pela amizade e valiosa ajuda durante a execução deste trabalho.

Ao meu noivo, Júnio Alexandre da Silva, pelo amor, amizade, companheirismo, apoio, confiança e paciência demonstrada ao longo desses anos de convivência.

A todos os meus familiares, que diretamente ou indiretamente ofereceram condições para que eu progredisse na minha caminhada.

Em especial, aos meus pais José Maria e Maria Helena Xavier, que me deram a vida e souberam me conduzir para que tivesse uma boa educação.

Aos colegas dos cursos de Entomologia e Agronomia pelo agradável convívio durante as disciplinas cursadas e pela relação de amizade, entretenimento e divergência de idéias que fazem da Universidade um ambiente propício à formação profissional e intelectual.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

Muito obrigada a todos!

BIOGRAFIA

VÂNIA MARIA XAVIER, filha de José Maria e Maria Helena Xavier, nascida aos 25 de abril de 1980, em Minas Gerais.

Em maio de 2002, ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em março de 2007. Durante a graduação, de março de 2005 a março de 2007, estagiou no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do DBA/UFV sob orientação do Prof. Marcelo Coutinho Picanço, onde desenvolveu vários trabalhos com manejo integrado pragas de hortaliças, grandes culturas, fruteiras e ornamentais.

Em março de 2007 iniciou o curso de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, sob a orientação do Prof. Dejar Message, defendendo tese em 16 de fevereiro de 2009.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1. Bioensaios de toxicidade dos inseticidas botânicos	7
2.1.1. Bioensaios de toxicidade dos inseticidas botânicos aos adultos de <i>N. testaceicornis</i> , <i>T. angustula</i> e <i>A. mellifera</i>	7
2.1.2. Bioensaio de toxicidade dos inseticidas botânicos a larvas de <i>A. mellifera</i>	9
2.2. Bioensaio de preferência alimentar de adultos das abelhas	10
2.3. Bioensaios de comportamento de movimentação de adultos das abelhas	11
3. RESULTADOS	13
3.1. Toxicidade dos inseticidas botânicos às abelhas	13
4. DISCUSSÃO	26
4.1. Toxicidade dos inseticidas botânicos as abelhas <i>N. testaceicornis</i> , <i>T. angustula</i> e <i>A. mellifera</i>	26
4.2. Efeito dos inseticidas botânicos no comportamento das abelhas <i>N. testaceicornis</i> , <i>T. angustula</i> e <i>A. mellifera</i>	27
5. CONCLUSÕES	28
6. LITERATURA CITADA	29

RESUMO

XAVIER, Vânia Maria, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Impacto de inseticidas botânicos sobre *Apis mellifera*, *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae).** Orientador: Dejair Message. Coorientadores: Marcelo Coutinho Picanço e Leandro Bacci.

Os efeitos adversos dos produtos organo-sintéticos têm motivado a busca por alternativas no controle de pragas. Dentre estas, os inseticidas botânicos se apresentam como uma opção para o manejo desses organismos. Contudo, antes da escolha do inseticida botânico, alguns critérios devem ser analisados, tais como: eficiência no controle da praga e seletividade aos organismos benéficos presentes no agroecossistema. As abelhas *Apis mellifera*, *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) são extremamente importantes na polinização de várias culturas. Entretanto, a utilização intensiva de inseticidas no controle de pragas tem ocasionado impactos negativos sobre os agentes polinizadores. Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar os impactos dos inseticidas botânicos rotenona, andiroba, extrato de alho e óleos de neem, citronela e eucalipto sobre *A. mellifera*, *N. testaceicornis* e *T. angustula*. Para tanto, foram realizados bioensaios de toxicidade com os inseticidas botânicos extrato de alho, óleo de andiroba, óleo de citronela, óleo de eucalipto, neem e rotenona a *A. mellifera*, *N. testaceicornis* e *T. angustula*. Adicionalmente, testes de preferência alimentar e de comportamento de movimentação foram conduzidos com adultos dos polinizadores. O inseticida mais tóxico aos adultos de *A. mellifera* foi o óleo de neem. Já para larvas desse polinizador, além deste inseticida, a rotenona e o óleo de citronela também foram tóxicos. Para *T. angustula* o óleo de citronela foi o mais tóxico. Nenhum dos inseticidas botânicos estudados apresentou toxicidade a *N. testaceicornis*. Todos os inseticidas botânicos causaram repelência aos adultos de *A. mellifera*. No bioensaio de comportamento de movimentação, a rotenona, o óleo de eucalipto, o neem e o extrato de alho diminuíram a velocidade de *A. mellifera*, porém à distância percorrida e o tempo de caminhamento não foram afetados por nenhum dos inseticidas botânicos testados. Para *N. testaceicornis* e *T. angustula* os inseticidas não afetaram o comportamento de movimentação. Nossos resultados fornecem informações importantes para o manejo de pragas com o intuito de preservar os agentes polinizadores.

ABSTRACT

XAVIER, Vânia Maria, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2009.
Impact of botanical insecticide on *Apis mellifera*, *Nannotrigona testaceicornis* and *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae).
Adviser: Dejair Message. Co-Advisers: Marcelo Coutinho Picanço and Leandro Bacci.

Adverse effects of organo-synthetic products have motivated search in alternative control of pests. Among this alternative, botanical insecticides present a viable option for the management of these organisms. However, before the choice of the botanical insecticide, some criteria must be analyzed, such as: efficiency to control the pest and selectivity to beneficial organisms in the agroecosystem. Intensive use of insecticides to control pests has caused negative impacts on the agents pollinators. Bees *Apis mellifera*, *Nannotrigona testaceicornis* and *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) are extremely important in pollination of various crops. Thus, the objective of this work was to evaluate the impacts of botanical insecticides rotenone, Andiroba, garlic extract and oil of Neem, citronella and eucalyptus on *A. mellifera*, *N. testaceicornis* and *T. angustula*. Thus, the toxicity bioassays of botanical insecticides were performed with the *A. mellifera*, *N. testaceicornis* and *T. angustula*. Additionally, tests of food preference and handling behavior were conducted with adults of pollinators. The most toxic insecticide to adults of *A. mellifera* was the oil of Neem. Rotenone and the oil of citronella were also toxic for larvae of this pollinator. Citronella of oil was the most toxic for *T. angustula*. None of botanical insecticides studied showed toxicity to *N. testaceicornis*. All botanical insecticides caused repellency to adults of *A. mellifera*. In the bioassay of handling behavior, rotenone, oil of eucalyptus, Neem and garlic extract decreased the speed of *A. mellifera*, but the distance traveled and time of walking were not affected by any of the botanical insecticides tested. Insecticides did not affect the behavior of handling of *N. testaceicornis* and *T. angustula*. Our results provide important information for pest management in order to preserve the beneficial pollinators agents present in agroecosystem.

1. INTRODUÇÃO

O controle de insetos-praga é uma prática frequentemente realizada nos cultivos agrícolas. Normalmente, a tática mais utilizada é o controle químico através de pulverização de inseticidas organo-sintéticos. Esses produtos são os mais utilizados por apresentarem normalmente alta eficiência, facilidade de obtenção e simplicidade de aplicação no campo. Porém, o uso de tais produtos, apesar da eficiência, podem apresentar sérios problemas como contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, surgimento de populações de insetos mais resistentes, ressurgência e erupção de pragas (Vendramim & Castiglione, 2000). Além disso, com o aumento do custo dos pesticidas e o efeito desses sobre organismos não-alvos, a busca por novos produtos seletivos tornou-se necessária. Dentre estes, os inseticidas botânicos surgem como uma alternativa ao uso de inseticidas organo-sintéticos para o controle de pragas nos cultivos agrícolas.

Os inseticidas botânicos são substâncias provenientes do metabolismo secundário de plantas (Wiesbrook, 2004). Essas substâncias não parecem ser essenciais para geração de energia como os carboidratos, os lipídeos, os aminoácidos e os nucleotídeos (Mann, 1995). Sua função está relacionada com a defesa das plantas contra herbívoros (Schoonhoven *et al.*, 1998). Devido a esta característica de defesa, um grande número de plantas com atividade inseticida tem sido estudado. Tais estudos são importantes, uma vez que as plantas possuem grande diversidade de compostos obtidos do seu metabolismo secundário que podem apresentar ações inseticidas, acaricidas, fungicidas e bactericidas (Mann, 1995).

Os efeitos dos inseticidas botânicos sobre os insetos são variáveis podendo ser tóxico, repelente, causar esterilidade, modificar o comportamento e o desenvolvimento ou reduzir a alimentação (Arnason *et al.*, 1990; Bell *et al.*, 1990). Os produtos naturais provenientes de plantas podem ser usados como modelos para a síntese de novos pesticidas sintéticos (Hedin *et al.*, 1994). Existem várias vantagens advindas da utilização dos inseticidas botânicos (Cloyd, 2004). Esses produtos normalmente apresentam rápida degradação, sobretudo em condições alta luminosidade, umidade e chuva. Devido a essa menor persistência no ambiente pode-se reduzir o impacto desses

produtos a organismos benéficos, homem e ambiente (Gioanetto & Chavez, 2000). Porém, antes de usar um inseticida, mesmo sendo esse de origem vegetal, a margem de segurança para o organismo não-alvo deve ser conhecida. Outra vantagem seria o rápido controle da praga já que paralisam ou reduzem sua alimentação quase imediatamente após sua aplicação. Normalmente, também apresentam baixa toxicidade a mamíferos e alguns na dose recomendada não são tóxicos ao homem, abelhas e outros organismos não-alvo. Estudos também têm mostrado que a maioria destes inseticidas não são fitotóxicos (Mordue & Nisbet, 2000).

O principal entrave à chegada dos inseticidas botânicos ao mercado é o registro. Em geral, não se trata de uma única substância de origem vegetal, sendo um complexo de substâncias quimicamente similares, mas com distintas estruturas moleculares, de maneira que as instituições de registro em todos os países solicitam a identificação de todas as substâncias e os correspondentes testes toxicológicos. Dessa forma, as dificuldades de se obter inseticidas de origem botânica são grandes, existindo poucos inseticidas registrados para utilização no controle de pragas. Dentre os inseticidas botânicos encontrados no mercado internacional estão àqueles derivados da rotenona, piretrina e azadiractina, e nos mercados locais, produtos de alho, nicotina e rianodina (Isman, 1997). Outros produtos a base de eucalipto, andiroba e citronela também são encontrados e comercializados para controle de insetos.

O inseticida botânico rotenona é um composto natural presente na planta *Lonchocarpus* spp. e *Derris* spp. (Leguminosae) encontradas na América do Sul e Ásia, respectivamente (Isman, 2006). Além dessas plantas, a rotenona também pode ser encontrada em diversas outras leguminosas tropicais. Os compostos resultantes da extração da raiz da planta são conhecidos como rotenóides. Estes causam efeitos tóxicos inicialmente nos músculos e nervos, cessando rapidamente a alimentação dos insetos e causam a morte desses algumas horas ou dias após a exposição. Seu modo de ação é caracterizado pela sua potente inibição da respiração celular bloqueando a cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias (Klaassen & Watkins, 2003; Oikada *et al.*, 2003). A rotenona é considerada um inseticida e acaricida de largo espectro de ação, sendo usada contra lagartas, besouros, pulgas, pulgões, formigas, cigarrinhas, moscas, cochonilhas e ácaros.

O extrato de alho *Allium sativum* L. (Liliaceae) possui vários compostos organosulfurados com atividade inseticida, dentre estes o principal é o dialil-disulfito (Thomas & Callaghan, 1999). O mecanismo de ação do extrato de alho não é bem conhecido. Entretanto estes extratos apresentam baixa seletividade em favor de inimigos

naturais, o que limita seu uso (Olkowski *et al.*, 1995). Segundo esse mesmo autor, esse composto deve ser utilizado preferencialmente em jardins, contudo o extrato de alho é utilizado também para controle de pulgões, lagartas (especialmente a lagarta das maçãs), mosca-dos-chifres e pulgas, sendo também usado como carrapaticida.

O óleo de neem, extraído das sementes da árvore *Azadirachta indica* (A. Jussieu) (Meliaceae), apresenta diversos compostos com atividade biológica, sendo o principal a azadiractina (Brunherotto & Vendramim, 2001). A azadiractina é tóxica a insetos, tem efeito de repelência, além de inibir a alimentação e crescimento destes (Mordue & Blackwell, 1993). Devido à alta atividade biológica da azadiractina, a árvore *A. indica* é considerada, dentre as que possuem compostos inseticidas, a planta mais utilizada no controle de insetos em todo o mundo (Brunherotto & Vendramim, 2001). A atividade inseticida do neem foi reportada para mais de 400 espécies de insetos, sendo que 100 destas têm ocorrência no Brasil (Penteado, 1999). O extrato de sementes de neem, na forma do produto comercial Natuneem e outros produtos são utilizados no controle de moscas-brancas, tripses, cochonilhas, lagartas e besouros (Martinez & Emden, 2001).

O óleo essencial de eucalipto tem o eucaliptol como seu principal constituinte, sendo a concentração dessa substância bastante variável entre as espécies de eucalipto (Chagas *et al.*, 2002). As folhas da espécie do eucalipto *Eucalyptus citriodora* (Hook.) (Myrtaceae) apresentam atividade de repelência ao caruncho do feijão *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Bruchidae) e inseticida aos besouros *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Ryzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) (Mazzonetto & Vendramim, 2003). Entretanto, segundo Guerra (1985), os derivados das plantas de eucalipto podem ser usados para proteção de grãos contra todas as pragas de grãos armazenados. Os ingredientes ativos contidos nas folhas de *E. citriodora* e outras espécies do gênero também se mostraram promissores para o controle de formigas cortadeiras do gênero *Atta* (Nakano & Cortez, 1967; Anjos & Santana, 1994).

A andiroba *Carapa guianensis* (Aublet.) é uma árvore da família Meliaceae cujo óleo extraído da semente, possui propriedades medicinais com potencial comercial. As meliáceas possuem metabólitos denominados limonóides, substâncias que são conhecidas pelo fato de apresentarem atividade em insetos, sejam interferindo no crescimento ou através da inibição de alimentação. O extrato de andiroba misturado com outras plantas repelentes (neem, eucalipto, citronela) é indicado para repelir formigas, cupins, aranhas, baratas e traças (Sampaio, 2000). O óleo de andiroba foi o

inseticida de origem vegetal mais eficiente no controle da oviposição da praga de produtos armazenados *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleoptera: Bruchidae) (Silva *et al.*, 1996). Substâncias isoladas de andiroba *C. guianensis* também apresentaram atividades inseticidas, causando alta mortalidade às operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) e às larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidade) (Sarria *et al.*, 2007).

A citronela é um óleo extraído de plantas do gênero *Cymbopogon* spp. (Poaceae). Estas plantas aromáticas ficaram bem conhecidas por fornecer matéria-prima (óleo essencial) para fabricação de repelentes contra insetos. O óleo de citronela é rico em citronelal, geraniol e limoneno e estas substâncias apresentam alta atividade de repelência. As plantas mais ricas nessa substância são o “capim citronela” *Cymbopogon nardus* (Rendle) e *Cymbopogon winterianus* (Jowitt), mas pode também ser encontrada em menor concentração em espécies de outras famílias de plantas (Saito, 2004). *C. winterianus* é citada como repelente de insetos de várias ordens (Silva Junior, 2003). O efeito repelente e inseticida de *C. winterianus* tem sido relatado no Brasil também para a lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda* (Labinas & Crocomo, 2002).

Os inseticidas botânicos para serem utilizados, além da eficiência no controle de insetos-praga, devem apresentar seletividade preservando os insetos benéficos como inimigos naturais e polinizadores. A seletividade é uma das características essenciais para escolha do produto a ser utilizado no controle de pragas, sendo a ausência dessa característica uma das limitações de sua utilização. Um pesticida para ser liberado no mercado necessita apresentar uma eficácia de no mínimo 80% de controle da praga (padrão mínimo de eficiência para registro de inseticida pelo Ministério da Agricultura e Pecuária no Brasil). Para escolha correta de um produto para controle de pragas devem ser considerados os seguintes critérios: registro do pesticida, o período de carência, o impacto ao ambiente, a eficácia de controle, rapidez de ação, seletividade a organismos benéficos, a persistência e o manejo da resistência da praga a pesticidas.

Os inseticidas botânicos poderiam ser utilizados para controle de pragas em diversas culturas agrícolas, pois a utilização intensa e inadequada de produtos organo-sintéticos vem afetando seriamente o ambiente e a entomofauna benéfica (Brito *et al.*, 2004).

Dentre os principais problemas relacionados com o uso de inseticidas organo-sintéticos estão os possíveis efeitos dessas substâncias sobre organismos não-alvos, como os polinizadores. A polinização é fundamental na condução de muitas culturas agrícolas (Williams *et al.*, 1991). Muitas plantas de interesse econômico apresentam

dependência da atuação dos insetos, sem os quais não ocorre a polinização e, conseqüentemente, a produção de frutos e sementes (Couto & Couto, 2002). Polinizadores, especialmente as abelhas, são muito importantes para aumento de produtividade de diversas culturas. McGregor (1976) afirma que quase 80% dos vegetais superiores de interesse econômico, sejam pelos seus frutos como pelas sementes, grãos, fibras e demais produtos, dependem quase que exclusivamente dos insetos para a polinização. Além da polinização, as abelhas são grandes produtoras de mel, pólen, própolis, geléia real, cera entre outros produtos.

Dentre as abelhas polinizadoras, a espécie *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae) é utilizada de forma generalizada na polinização. Isso se deve não somente a sua eficiência polinizadora, mas principalmente devido a sua disponibilidade, facilidade de manejo, por atingir facilmente altas populações e por ser polinizadora de inúmeras culturas de importância econômica, cujas características facilitam a introdução de polinizadores em áreas cultivadas (Benedek & Gaal, 1972). A abelha africanizada apresenta importantes características como rusticidade, alta capacidade de produção de mel e própolis e maior capacidade de identificação de fonte de alimento. Outro aspecto que favorece o uso de abelhas melíferas em áreas agrícolas é que sua biologia é bem conhecida e elas podem ser manejadas em caixas facilmente transportáveis, para a polinização de muitas culturas agrícolas (Corbett *et al.*, 1991; Freitas, 1995).

Entre as abelhas sociais brasileiras, as pertencentes à subtribo Meliponina chamadas popularmente de abelhas indígenas sem ferrão, são as mais conhecidas. As abelhas nativas sem ferrão são responsáveis pela reprodução de 40% a 90% dos vegetais que necessitam de polinização cruzada em florestas tropicais (Kerr *et al.*, 1996).

A espécie *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1807) (Hymenoptera: Apidae), conhecida popularmente como jataí, é uma das abelhas sem ferrão mais comum da região Neotropical e se adapta com certa facilidade às diferentes condições de nidificação, como em buracos de muros, de pedras, de troncos ocos de árvores e de caixa de luz (Moure, 1961). De acordo com Nogueira-Neto (1997), a *T. angustula* é a abelha que apresenta maior potencial como agente polinizador de flores não polinizadas por *A. mellifera*. Um dos efeitos diretos disso pode ser visto no aumento da produtividade de plantas cultivadas, por meio da introdução de ninhos de abelhas em áreas de cultivo (Pedro & Camargo, 2000).

A abelha iraiá, *Nannotrigona testaceicornis* (Lepetier, 1836) (Hymenoptera: Apidae), nidifica em ocos de árvores, moirões de cerca, paredões de pedra etc.

(Lindauer & Kerr, 1960). A entrada do ninho é um tubo, geralmente curto, feito com cerume pardo ou escuro. Durante a noite, o tubo é fechado com a construção de uma rede de cerume, que é recolhida ao amanhecer. Maeta *et al.*, (1992), em experimentos realizados no Japão, utilizaram abelhas sem ferrão da espécie *N. testaceicornis*, importadas do Brasil, para polinização de morango obtendo frutos mais pesados e uma porcentagem mais elevada de frutos bem formados. Santos *et al.* (2008) verificaram maior produção de pepinos (maior quantidade de frutos perfeitos) em casas de vegetação com abelhas *N. testaceicornis* como polinizadoras.

A grande maioria dos trabalhos de pesquisa com inseticidas botânicos levam em consideração o efeito dos mesmos sobre as pragas, não considerando um possível efeito sobre insetos benéficos, como os polinizadores. Diante dos problemas enfrentados pelos polinizadores pelo uso intenso de produtos químicos que limitam o desenvolvimento e rendimento das populações apícolas, este trabalho tem como objetivo avaliar o impacto de inseticidas botânicos sobre os polinizadores *A. mellifera*, *N. testaceicornis* e *T. angustula*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os inseticidas botânicos estudados foram: extrato de alho (Naturalho), óleo de andiroba, óleo de citronela, óleo de eucalipto (citriodora), neem (Natuneem) e rotenona (Rotenat CE). As espécies de abelhas estudadas foram: iraiá *Nannotrigona testaceicornis*, jataí *Tetragonisca angustula* e *Apis mellifera*. Os tratamentos foram os inseticidas botânicos nas doses recomendadas pelo fabricante (Natural Rural- Produtos naturais para agropecuária) para o controle de pragas e a testemunha na qual não se usou inseticida. As concentrações utilizadas foram: extrato de alho na concentração de 30mL/100L; os óleos de andiroba, citronela e eucalipto 1mL/100mL; neem 0,2mL/100 mL e rotenona 1mL/200mL de calda.

Os bioensaios realizados foram de toxicidade, de preferência alimentar e de comportamento de movimentação das abelhas.

2.1. Bioensaios de toxicidade dos inseticidas botânicos

2.1.1. Bioensaios de toxicidade dos inseticidas botânicos aos adultos de *N. testaceicornis*, *T. angustula* e *A. mellifera*

Estes bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), nos meses de abril a maio de 2008. Foram usadas adultos das abelhas coletados de colméias no Apiário da UFV usando-se pote plástico (1500 mL) de boca de 15 cm de diâmetro posicionado em frente à entrada da colméia de modo que as operárias entrassem no frasco ao saírem da colônia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os tratamentos foram os inseticidas botânicos na concentração recomendada para controle de pragas e a testemunha. Cada parcela experimental foi constituída por uma (adultos das abelhas *N. testaceicornis* e *T. angustula*) ou duas (adultos de *A. mellifera*) placas de Petri (9 cm de diâmetro x 2 cm de altura) contendo 10 ou cinco insetos respectivamente. Os adultos de *A. mellifera* foram divididos em duas placas devido ao seu maior tamanho corporal.

Para a realização dos bioensaios, folhas de abóbora foram imersas em solução aquosa contendo inseticidas botânicos nas concentrações recomendadas para controle de pragas por cinco segundos. Na testemunha as folhas foram imersas em água. As folhas foram colocadas para secar à sombra sob temperatura ambiente por duas horas e após secagem foram inseridas em placas de Petri. As placas de Petri que receberam as espécies de abelhas foram colocados dois recipientes plásticos de 1,5 cm de diâmetro x 1,0 cm de altura, um contendo cãndi (açúcar e mel) e o outro água. Os conteúdos destes recipientes foram renovados quando foi avaliada a mortalidade das abelhas. As placas de Petri com os insetos foram acondicionadas em estufa incubadora a $25 \pm 0,5$ °C, umidade relativa do ar de $75 \pm 5\%$ e fotofase de 12 horas. Um, dois, três, quatro, cinco e seis dias após a montagem dos bioensaios foram realizadas contagens do número de insetos mortos por unidade experimental. Foram considerados como mortos os insetos que perderam a coordenação motora. Foram calculadas as mortalidades dos insetos em cada parcela experimental.

A mortalidade ocorrida nos tratamentos foi corrigida pela mortalidade ocorrida na testemunha usando-se a fórmula de Abbott (1925). Os dados de mortalidade corrigida da última data de avaliação para cada espécie de inseto foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$ (Scott & Knott, 1974). Os dados de mortalidade causada por cada tratamento em função do tempo (dias) foram submetidos à análise de regressão a $p < 0,05$. Os coeficientes destas curvas foram submetidos à análise de identidade de modelos pelo teste F a $p < 0,05$ para os tratamentos que causaram mortalidades semelhantes segundo o teste Scott-Knott a $p < 0,05$. As curvas semelhantes foram agrupadas num único modelo. Foram calculados os intervalos de confiança a 95% de probabilidade para cada curva. Os intervalos de confiança foram utilizados para verificação da diferença entre os tratamentos ao longo do tempo. Quando uma curva esteve totalmente inserida no intervalo de confiança de outra estas curvas foram consideradas semelhantes, sendo estimada uma única curva para estes tratamentos. Os intervalos de confiança foram também utilizados para verificar a partir de que momento os tratamentos foram diferentes. No período em que uma curva esteve inserida no tratamento da outra estes tratamentos foram considerados semelhantes (Regazzi, 1996).

2.1.2. Bioensaio de toxicidade dos inseticidas botânicos a larvas de *A. mellifera*

Este bioensaio foi conduzido no Laboratório de Patologia Apícola da UFV. Foram usadas larvas de *A. mellifera*, com um dia de idade, obtidas de favos de cria de operárias de colméias do Apiário da UFV.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os tratamentos foram os inseticidas botânicos nas concentrações recomendadas para controle de pragas e a testemunha. Cada parcela experimental foi constituída por uma placa de Petri (9 cm de diâmetro x 2 cm de altura) contendo 10 larvas de *A. mellifera*. As larvas de *A. mellifera* utilizadas foram criadas em laboratório em cúpulas de polietileno (9,8mm de altura x 5,6 mm de largura inferior x 8,8 mm de largura superior) que foram previamente montadas em placas de Petri (dez cúpulas por placa), utilizando como base um disco de Isopor® perfurado.

A dieta utilizada para alimentação das larvas, segundo Rembold & Lackner (1981) modificado por Silva *et al.* (2005), foi constituída de 49,0% de geléia real, 36,3% de água, 6,8% de d-frutose, 6,8% de d-glicose e 1,1% de extrato de lêvedo. Os açúcares e o extrato de lêvedo foram dissolvidos em água e filtrados em membrana Millipore (0,22µm). Em seguida, o filtrado foi adicionado à geléia real (produzida no Apiário da UFV). A dieta foi homogeneizada e armazenada à 5°C em frascos de vidro estéreis envolvidos por papel alumínio. As larvas foram alimentadas diariamente por cinco dias consecutivos com 4, 15, 25, 50 e 70 µL de dieta (Silva *et al.*, 2005).

As larvas de operárias de *A. mellifera* foram submetidas aos tratamentos com inseticidas no 3º dia de alimentação, pois nesse dia as abelhas começam a receber alimento que chega do campo. No 3º dia cada larva de *A. mellifera* recebeu 25 µL de dieta, obtida pela mistura de: 1,0 g de geléia real; 0,136 g de d-frutose; 0,136 g de d-glicose; 0,022 g de extrato de lêvedo e 0,73 mL dos inseticidas botânicos nas concentrações recomendadas para controle de pragas. A testemunha consistia de 1,0 g de geléia real; 0,136 g de d-frutose; 0,136 g de d-glicose; 0,022 g de extrato de lêvedo e 0,73 mL de água destilada. As placas de Petri com as larvas foram mantidas em uma estufa incubadora com temperatura de 34°C e umidade relativa do ar, controlada em 96%, por meio de uma solução de glicerol a 15,5%.

Após o período de alimentação, as larvas foram retiradas das cúpulas e colocadas em placas de Petri revestidas com dupla camada de gaze, contendo divisões de papel para individualizá-las. A mortalidade foi avaliada em cada estágio (larva e pupa) até a emergência dos adultos. Diariamente, ao longo de todo ciclo de desenvolvimento, contou-se o número de abelhas mortas em cada placa de Petri e esses

indivíduos foram removidos.

As mortalidades das larvas em cada tratamento foram submetidas à análise de regressão em função do tempo ($p < 0,05$), conforme procedimento descrito no item 2.1.1.

2.2. Bioensaio de preferência alimentar de adultos das abelhas

A preferência alimentar de adultos de *A. mellifera* foi avaliada em teste de livre escolha a campo no Apiário da UFV em julho de 2008. Cada parcela experimental foi constituída de frasco de vidro de 100 mL contendo 20 mL de xarope de açúcar (60% de água e 40% de açúcar) (Malerbo Souza *et al.*, 2003). Este xarope continha o inseticida botânico na concentração recomendada para controle de pragas de acordo com o tratamento. A testemunha continha o xarope na mesma concentração dos demais tratamentos, porém sem uso de inseticidas. Este bioensaio foi conduzido em blocos inteiramente casualizados com 18 repetições. Cada bloco foi constituído por mesa de madeira (2,0 m de comprimento x 1,5 m de largura x 1,0 m de altura) com os frascos dispostos em círculo de 100 cm de diâmetro com as parcelas experimentais distanciadas 10 cm das vizinhas. A mesa com os alimentadores foram colocados cerca de 30 m das colônias.

As abelhas que alimentaram de cada tratamento foram contadas e aprisionadas em frascos plásticos de 1500 mL vedado com tampa. O período de observação foi de 10 minutos e após era realizado um intervalo de 15 minutos entre cada repetição. Os dados do número total de visitas das abelhas a cada parcela foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$ (Scott & Knott, 1974).

Foram realizados experimentos de preferência alimentar no campo para as abelhas *N. testaceicornis*, *T. angustula* em função dos tratamentos de forma semelhante ao bioensaio executado para *A. mellifera*. Essas abelhas não visitaram o xarope no tempo avaliado.

O teste de livre escolha para as abelhas *N. testaceicornis* e *T. angustula* foi repetido em laboratório. Cada parcela experimental foi constituída de uma gaiola de madeira recoberta por organza (50,0 cm de comprimento x 50,0 cm de largura x 50,0 cm de altura). Adicionou-se no interior da gaiola, chumaços de algodão umedecidos em xarope de açúcar (60% de água e 40% de açúcar) que continham o inseticida botânico na concentração recomendada para o controle de pragas de acordo com o tratamento. A testemunha continha o xarope de açúcar na mesma concentração, porém sem o uso de inseticidas. O bioensaio foi conduzido em blocos inteiramente casualizados com 10

repetições. O período de observação foi de 10 minutos. Cada bloco foi constituído de uma gaiola com dois chumaços de algodões de cada tratamento distanciados 14 cm um do outro. Foram introduzidas na gaiola 15 abelhas e essas eram trocadas a cada repetição. Mais uma vez, essas abelhas não visitaram o chumaço de algodão umedecido com os tratamentos no tempo avaliado.

2.3. Bioensaios de comportamento de movimentação de adultos das abelhas

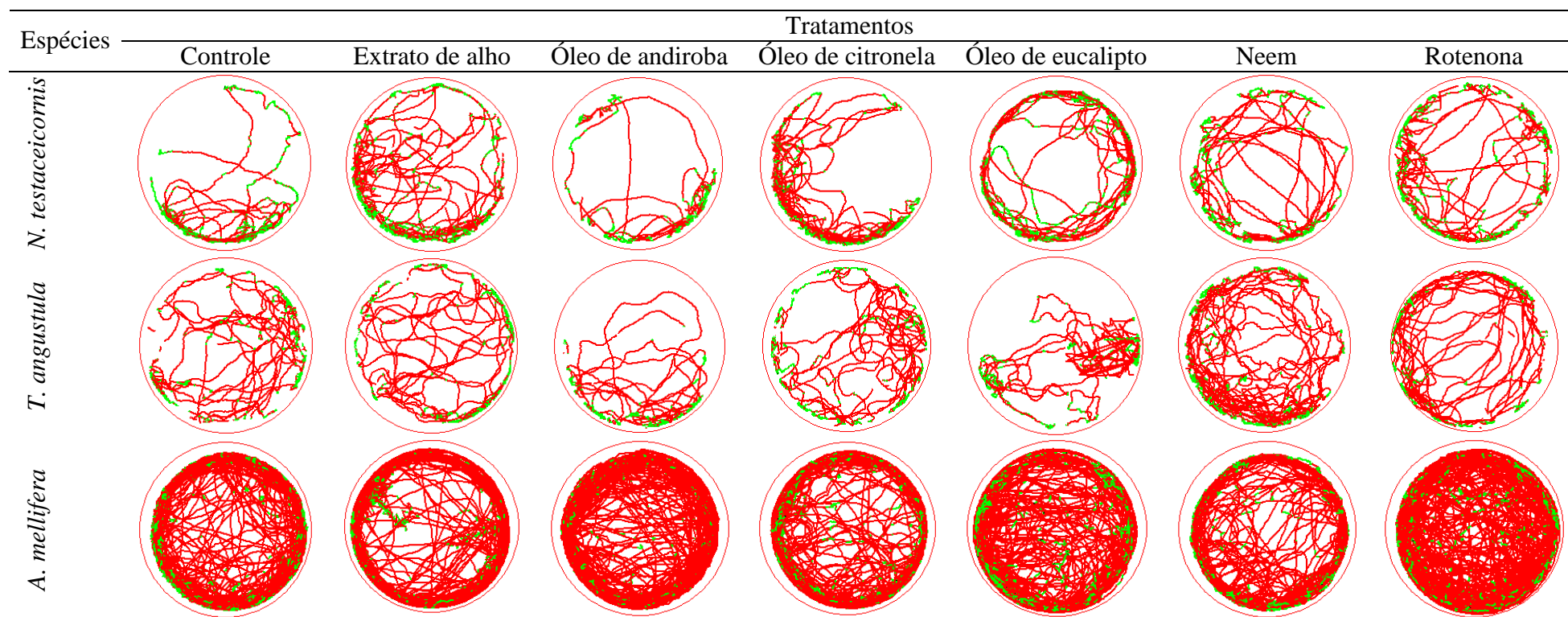
Estes bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia da UFV em dezembro de 2008. Foram utilizados adultos das abelhas coletados, de colméias do Apiário da UFV, em gaiolas de madeira cúbicas recobertas por organza com 50 cm de aresta.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 14 repetições. Cada parcela experimental foi constituída por placa de Petri (9 cm de diâmetro x 2 cm de altura) contendo papel filtro tratado com 1 mL de solução aquosa do inseticida na concentração recomendada de acordo com o tratamento. Na testemunha foi aplicado 1 mL de água. As placas de Petri com papel de filtro tratado foram colocadas sob capela de exaustão por cinco minutos para secagem e posteriormente adicionou-se uma abelha por placa.

A placa de Petri com a abelha foi levada ao sistema videotrack (Versão 3.0) (ViewPoint Life Sciences Inc., Montreal – Canadá) para avaliação do comportamento de movimentação. Este equipamento possui câmera de filmagem acoplada a microcomputador com software que grava as imagens de movimentação do indivíduo durante um período de 10 minutos (Figura 1) e possibilita a avaliação da distância percorrida, tempo e velocidade de movimentação (Freitas *et al.*, 2008).

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e suas médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$ (Scott & Knott, 1974).

Figura 1. Caminhamento das três espécies de abelhas quando em contato com a superfície tratada com os seis inseticidas botânicos.



3. RESULTADOS

3.1. Toxicidade dos inseticidas botânicos às abelhas

Os inseticidas botânicos estudados não apresentaram toxicidade aos adultos da abelha *N. testaceicornis* (Figura 2A).

O inseticida mais tóxico após quatro dias de exposição aos adultos de *A. mellifera* foi o neem e o menos tóxico foi o óleo de andiroba. Já o extrato de alho, rotenona e os óleos de citronela e de eucalipto apresentaram toxicidade intermediária a estes extremos aos adultos de *A. mellifera* (Figura 2B).

As curvas de mortalidade de adultos de *A. mellifera* em função do tempo de exposição aos inseticidas botânicos foram agrupadas em três modelos. O primeiro foi composto pelo extrato de alho, rotenona, óleo de citronela e óleo de eucalipto, o segundo pelo neem e o terceiro pelo óleo de andiroba (Tabela 1). O inseticida neem aumentou a mortalidade causada a adultos de *A. mellifera* em função do tempo de exposição. Os inseticidas botânicos extrato de alho, rotenona e os óleos de eucalipto, citronela e andiroba causaram mortalidade intermediária desde a primeira avaliação realizada 24 horas após a exposição dessas abelhas a concentração recomendada destes inseticidas (Tabela 2 e Figura 3).

O inseticida mais tóxico após seis dias de exposição aos adultos da abelha *T. angustula* foi o óleo de citronela e o menos tóxico óleo de andiroba. O extrato de alho e a rotenona não foram tóxicos a esta abelha (Figura 2C).

As curvas de mortalidade de *T. angustula* em função do tempo de exposição aos inseticidas botânicos foram agrupadas em cinco modelos. O primeiro foi composto pela rotenona e extrato de alho, o segundo pelo neem, o terceiro pelo óleo de eucalipto, o quarto pelo óleo de citronela e o quinto pelo óleo de andiroba (Tabela 1). O inseticida botânico neem aumentou a mortalidade causada à abelha *T. angustula* em função do tempo de exposição. Os demais inseticidas causaram mortalidade a essa abelha desde a primeira avaliação realizada 24 horas após a exposição das abelhas a concentração recomendada deste inseticida (Tabela 2 e Figura 4).

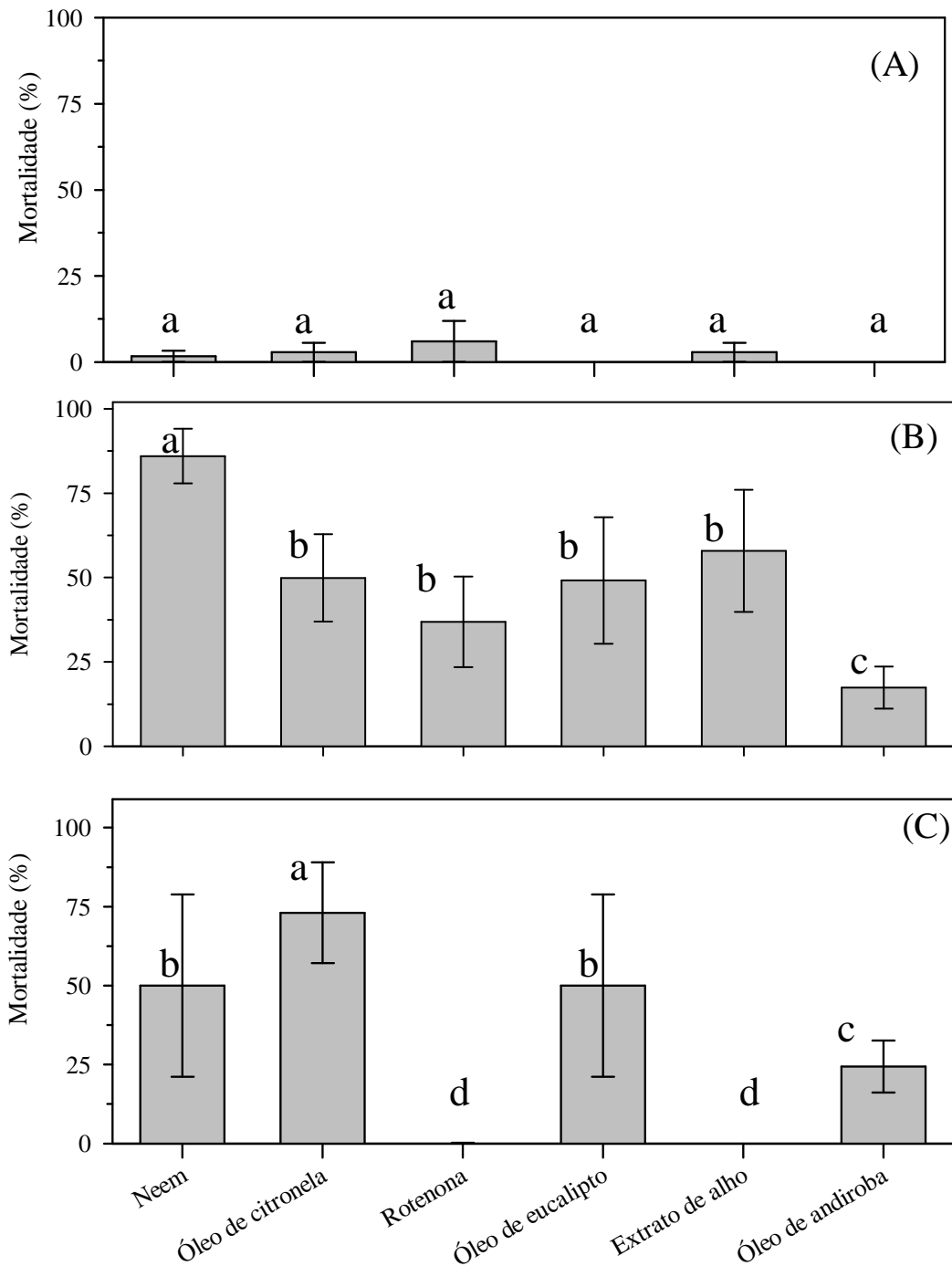


Figura 2. Mortalidade (média \pm erro padrão) de adultos das abelhas (A) *Nannotrigona testaceicornis* (B) *Apis mellifera* e (C) *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) após seis dias de exposição por contato à concentração recomendada de seis inseticidas botânicos. Os histogramas seguidos pela mesma letra minúscula não diferem, entre si, pelo teste Scott Knott a $p < 0,05$.

Tabela 1. Teste de identidade dos modelos das regressões lineares simples da mortalidade das abelhas *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) e *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em função do tempo após a aplicação da concentração recomendada dos óleos de andiroba (Oa), citronela (Oc) e eucalipto (Oe), neem (Nn), rotenona (Rt) e extrato de alho (Ea).

Inseto	Tratamentos ¹ semelhantes	Teste de identidade do modelo			Modelos	
		Comparações	F	p	Grupo	Tratamentos do modelo
Adultos de <i>T. angustula</i>	Rt ≈ Ea	Rt x Ea	1,09	0,3443	I	Rt e Ea
	Oe ≈ Nn	Oe x Nn	5,37	0,0082	II	Nn
					III	Oe
					IV	Oc
					V	Oa
Adultos de <i>A. mellifera</i>	Rt ≈ Ea ≈ Oc ≈ Oe	Rt x Ea x Oc x Oe	0,63	>0,50	I	Ea, Rt, Oc e Oe
					II	Nn
					III	Oa
Larvas de <i>A. mellifera</i>	Oe ≈ Oa	Oe x Oa	4,80	0,0122	I	Rt, Nn, Oa Oc e Oe*
	Rt ≈ Nn ≈ Oc	Rt x Nn x Oc	1,62	0,1764	II	Ea

¹ Tratamentos com mortalidades médias semelhantes (≈) pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

* Modelo determinado devido aos intervalos de confiança destes tratamentos serem semelhante

Tabela 2. Resultados das análises de regressão das abelhas *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) e *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em função do tempo após a aplicação da concentração recomendada do extrato de alho (Ea), neem (Nn), rotenona (Rt) e óleos de andiroba (Oa), citronela (Oc) e eucalipto (Oe),).

Grupo ^a	Tratamentos	Equação ^b	F	p	R ²	Tempo ^{b, c}
<i>Adultos de T. angustula</i>						
I	Oc	Y' = 75,28	0,0003	0,95	-	*
II	Oe	Y' = 53,03	0,03	0,87	-	<5 dias (III)
III	Nn	Y' = -18,40+10,58X	7,14	0,0139	0,25	<3 dias (IV)
IV	Oa	Y' = 26,20	0,002	0,97	-	-
V	Ea e Rt	Y' = 1,17	3,20	0,08	-	>3 dias(III)
<i>Adultos de A. mellifera</i>						
I	Nn	Y' = 9,52 + 17,21X	8,28	0,0122	0,37	>3 dias (II)
II	Ea, Rt, Oc e Oe	Y' = 42,60	1,72	0,1940	-	-
III	Oa	Y' = 11,92	1,35	0,2644	-	*
<i>Larvas de A. mellifera</i>						
I	Rt, Nn, Oa, Oc e Oe	Y' = 10,67 + 2,83X	109,68	<0,0001	0,43	>4 dias (II)
II	Ea	Y' = 2,46	0,09	0,7632	-	-

^a Os números romanos representam grupos de tratamentos com curvas semelhantes pelo teste de identidade de modelos.

^b Y' = mortalidade (%). X = tempo (dias).

^c Tempo em que esta curva diferiu de outras com base nos seus intervalos de confiança.

* Curva que diferiu das demais durante todo o tempo.

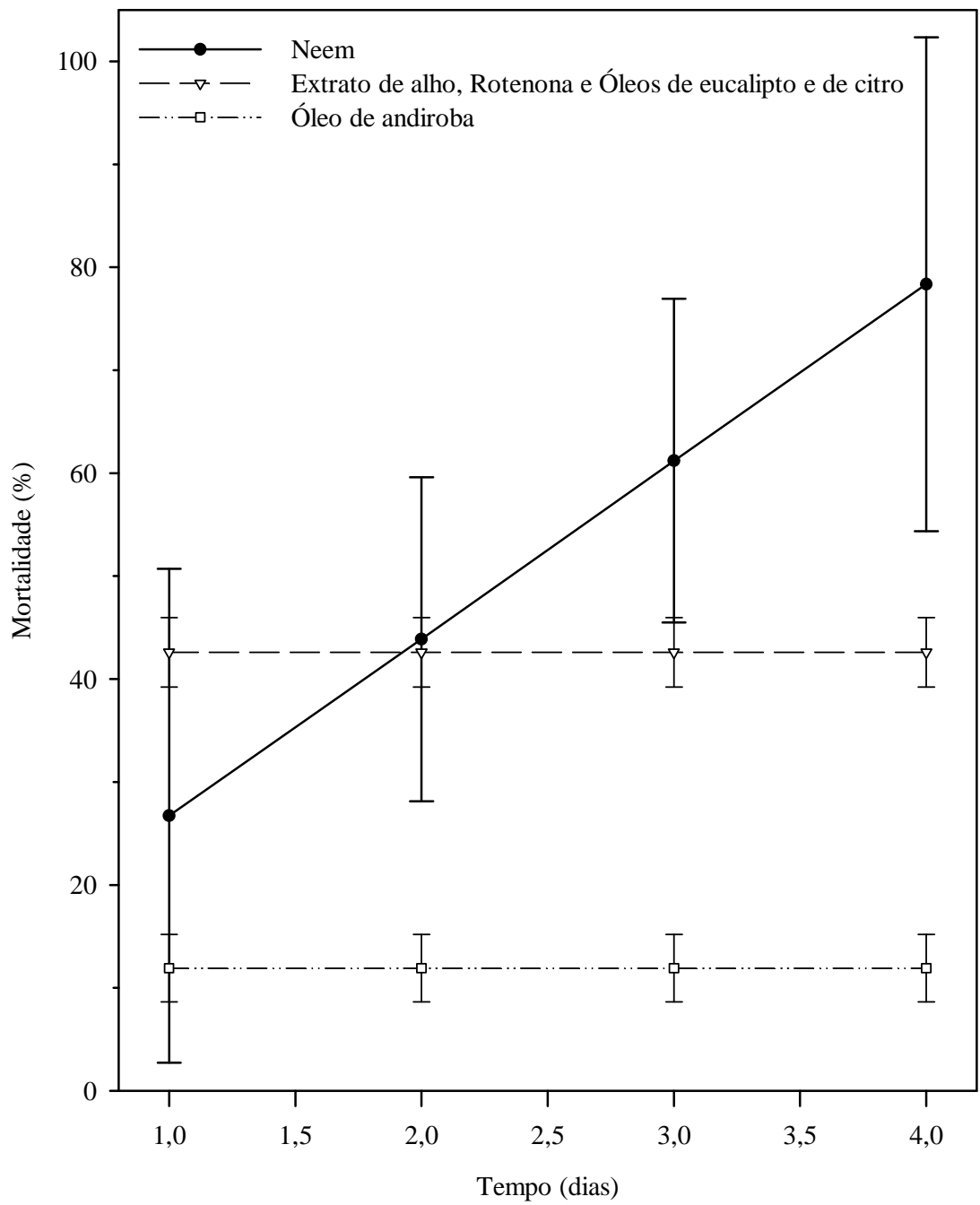


Figura 3. Mortalidade de adultos da abelha *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em função do tempo após a aplicação da concentração recomendada de seis inseticidas botânicos.

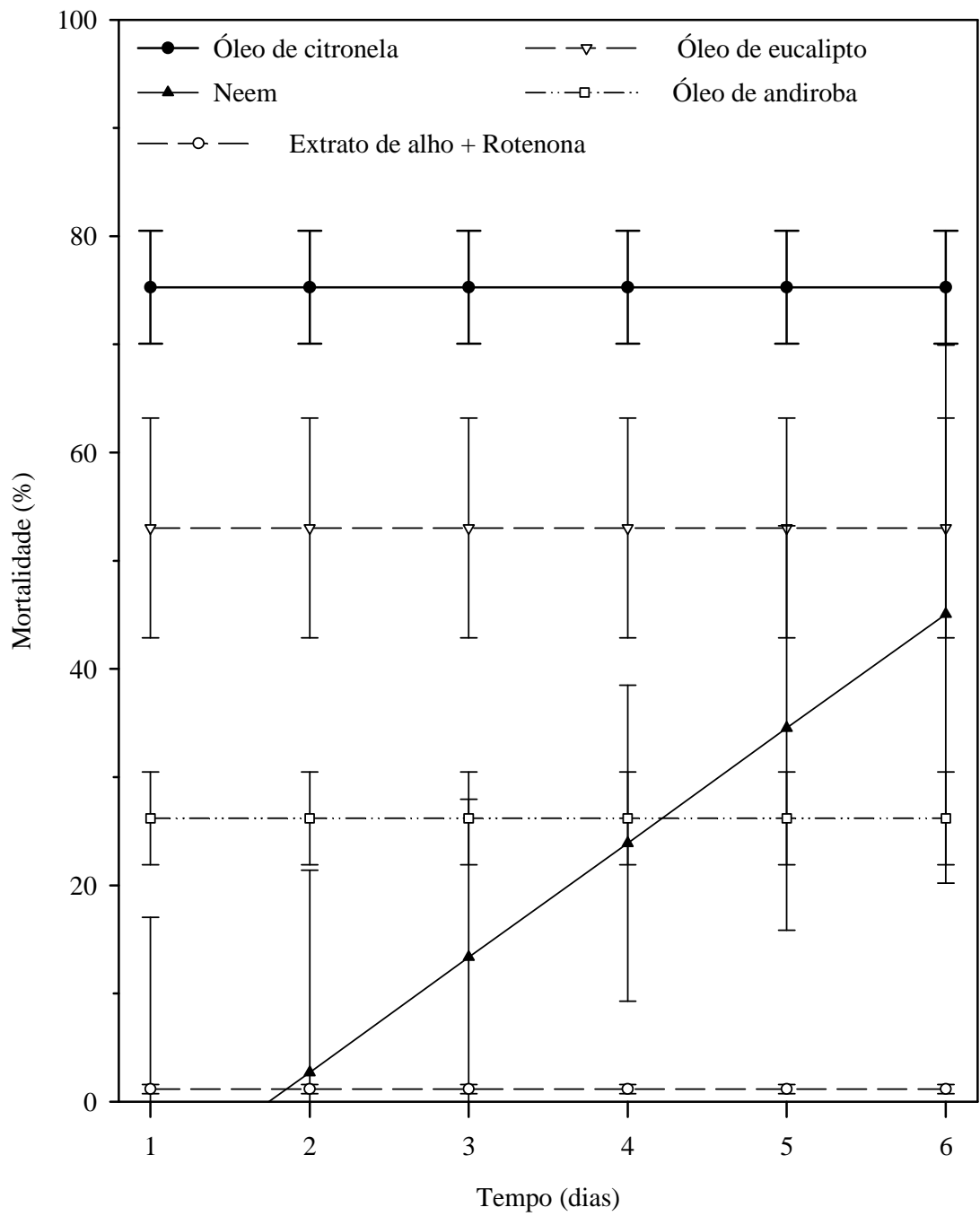


Figura 4. Mortalidade de adultos da abelha *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) em função do tempo após a aplicação da concentração recomendada de seis inseticidas botânicos.

Os inseticidas mais tóxicos após 14 dias de ingestão pelas larvas de *A. mellifera* foram o neem, rotenona e óleo de citronela e os menos tóxicos foram os óleos de eucalipto e de andiroba. Já o extrato de alho não apresentou efeito tóxico às larvas de *A. mellifera* (Figura 5A).

As curvas de mortalidade de larvas de *A. mellifera* em função do tempo de exposição aos inseticidas botânicos foram agrupadas em dois modelos. O primeiro foi composto pela rotenona, neem e os óleos de andiroba, citronela e eucalipto e o segundo pelo extrato de alho (Tabela 1). Todos os inseticidas botânicos aumentaram a maior mortalidade causada a larvas de *A. mellifera* em função do tempo de exposição com exceção do extrato de alho que causou baixa mortalidade desde a primeira avaliação realizada 24 horas após a exposição das larvas a concentração recomendada deste inseticida (Tabela 2 e Figura 6).

No bioensaio das larvas de *A. mellifera*, as abelhas sobreviventes recém-emergidas foram coletadas e cada indivíduo teve a massa corporal avaliada utilizando-se uma balança de precisão. As larvas de *A. mellifera* alimentadas com dieta contendo extrato de alho, óleos de andiroba e de citronela que sobreviveram, originaram adultos com maior massa corporal do que da testemunha, óleo de eucalipto, neem e rotenona (Figura 5B). Foram tomadas as medidas de comprimento corporal das pupas de *A. mellifera* que foram convertidas em centímetros. No final da fase de pupa essas foram fotografadas com uma régua ao lado para servir de padrão. As fotografias foram abertas no programa QuantPoro v.1.0.2 onde pôde ser tomadas as medidas corporais das pupas. As larvas desta espécie de abelha alimentadas com dieta contendo todos os inseticidas botânicos testados originaram pupas com comprimento corporal semelhante ao da testemunha.

3.3. Efeito dos inseticidas botânicos no comportamento das abelhas

Verificou-se que todos os inseticidas botânicos apresentaram repelência a adultos de *A. mellifera* no teste de livre escolha. A ordem decrescente de repelência foi óleo de citronela > óleo de eucalipto > óleo de andiroba e neem > extrato de alho e rotenona (Figura 7). As abelhas *N. testaceicornis* e *T. angustula* não apresentaram resposta aos tratamentos nos bioensaios de livre escolha tanto a campo como em laboratório.

Os inseticidas não afetaram a distância percorrida e o tempo de caminhamento pela abelha *A. mellifera*. Os adultos de *A. mellifera* diminuiram sua velocidade de movimentação em superfície tratada com rotenona, o óleo de eucalipto, o neem e o extrato de alho. Já o óleo de andiroba e o óleo de citronela não afetaram a velocidade de movimentação de *A. mellifera* (Figura 8).

Os inseticidas botânicos não afetaram a distância percorrida, o tempo em movimento e a velocidade de movimentação dos adultos das abelhas *N. testaceicornis* e *T. angustula* no bioensaio de comportamento de movimentação (Figuras 9 e 10).

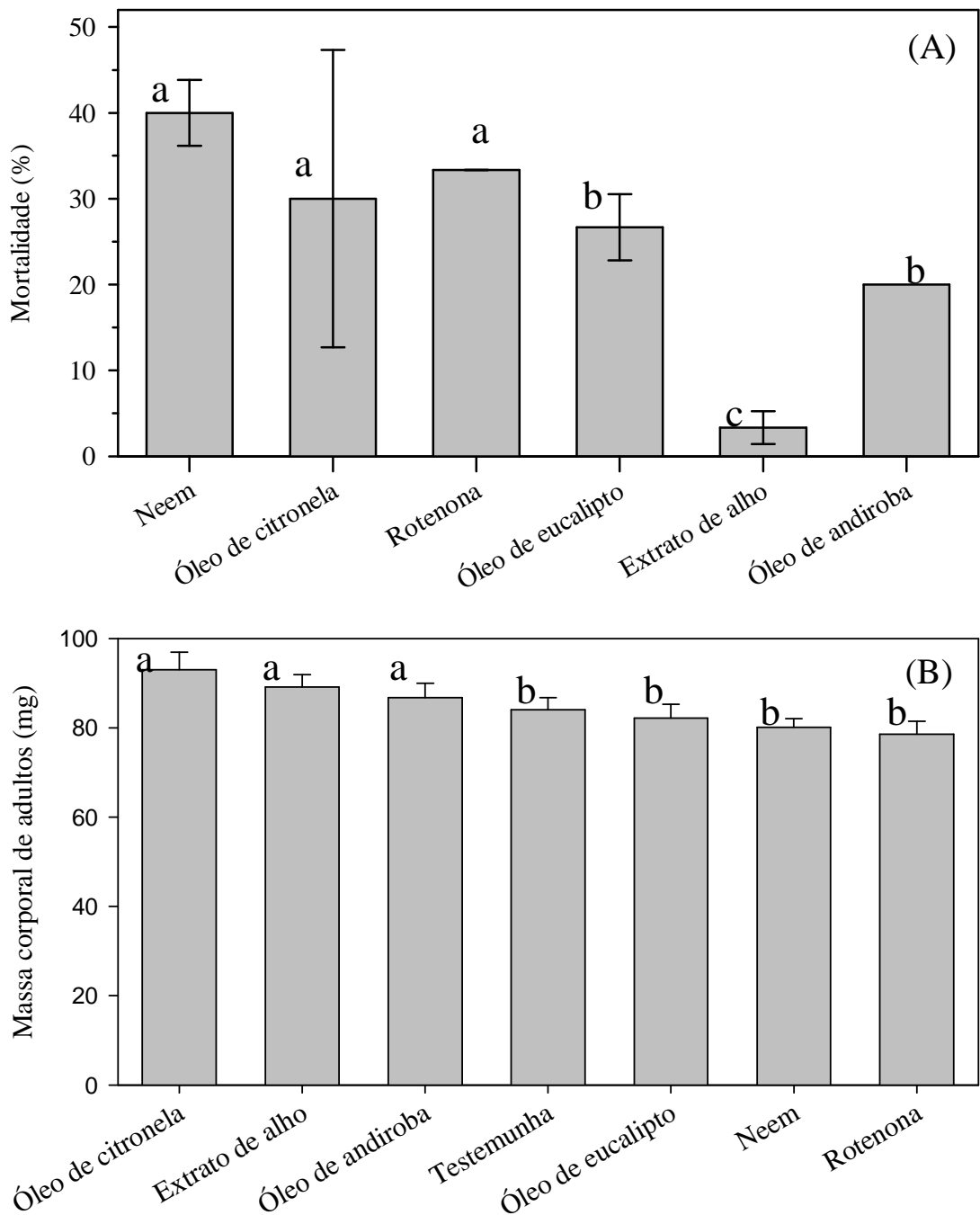


Figura 5. Mortalidade (média \pm erro padrão) de (A) larvas da abelha *Apis mellifera* e (B) Massa corporal de adultos de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em função da aplicação da concentração recomendada de seis inseticidas botânicos. \square = Erro padrão. Os histogramas seguidos pela mesma letra minúscula não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

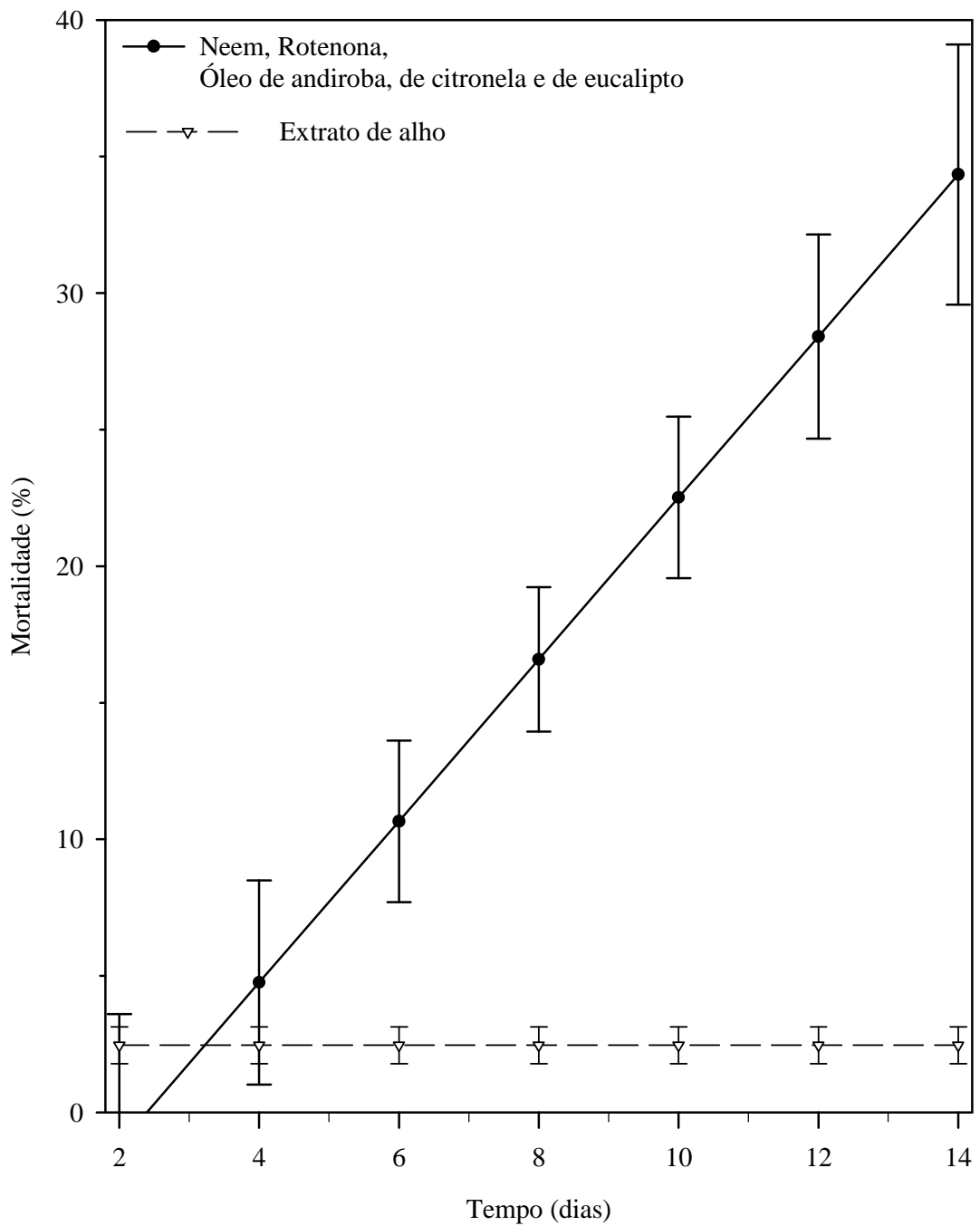


Figura 6. Mortalidade de larvas de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em função do tempo após o início de fornecimento de dieta com a concentração recomendada de seis inseticidas botânicos.

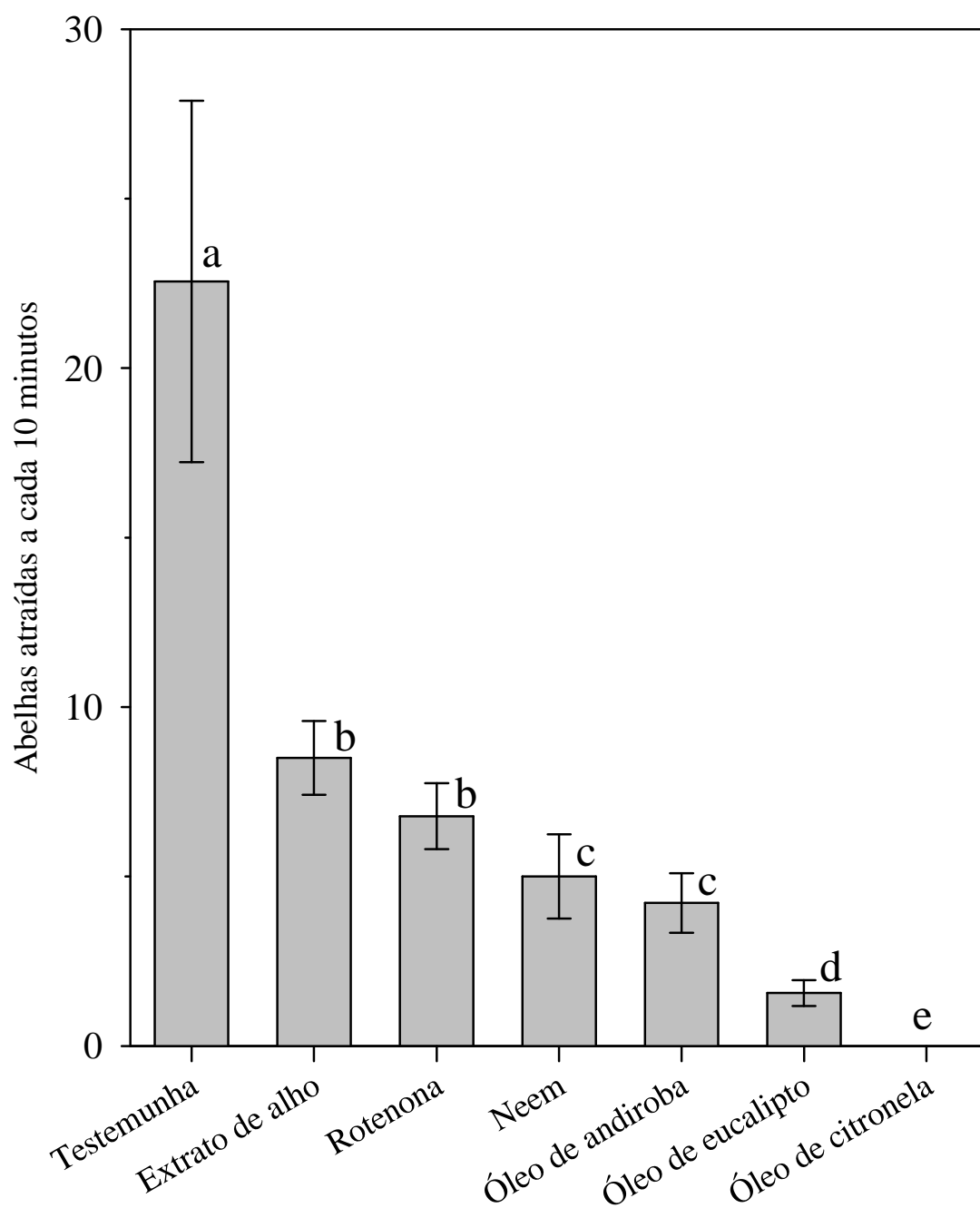


Figura 7. Número de adultos de *Apis mellifera*. (Hymenoptera: Apidae) que visitaram xarope de açúcar contendo a concentração recomendada de seis inseticidas botânicos em teste de livre escolha. \perp = Erro padrão. Os histogramas seguidos pela mesma letra minúscula não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

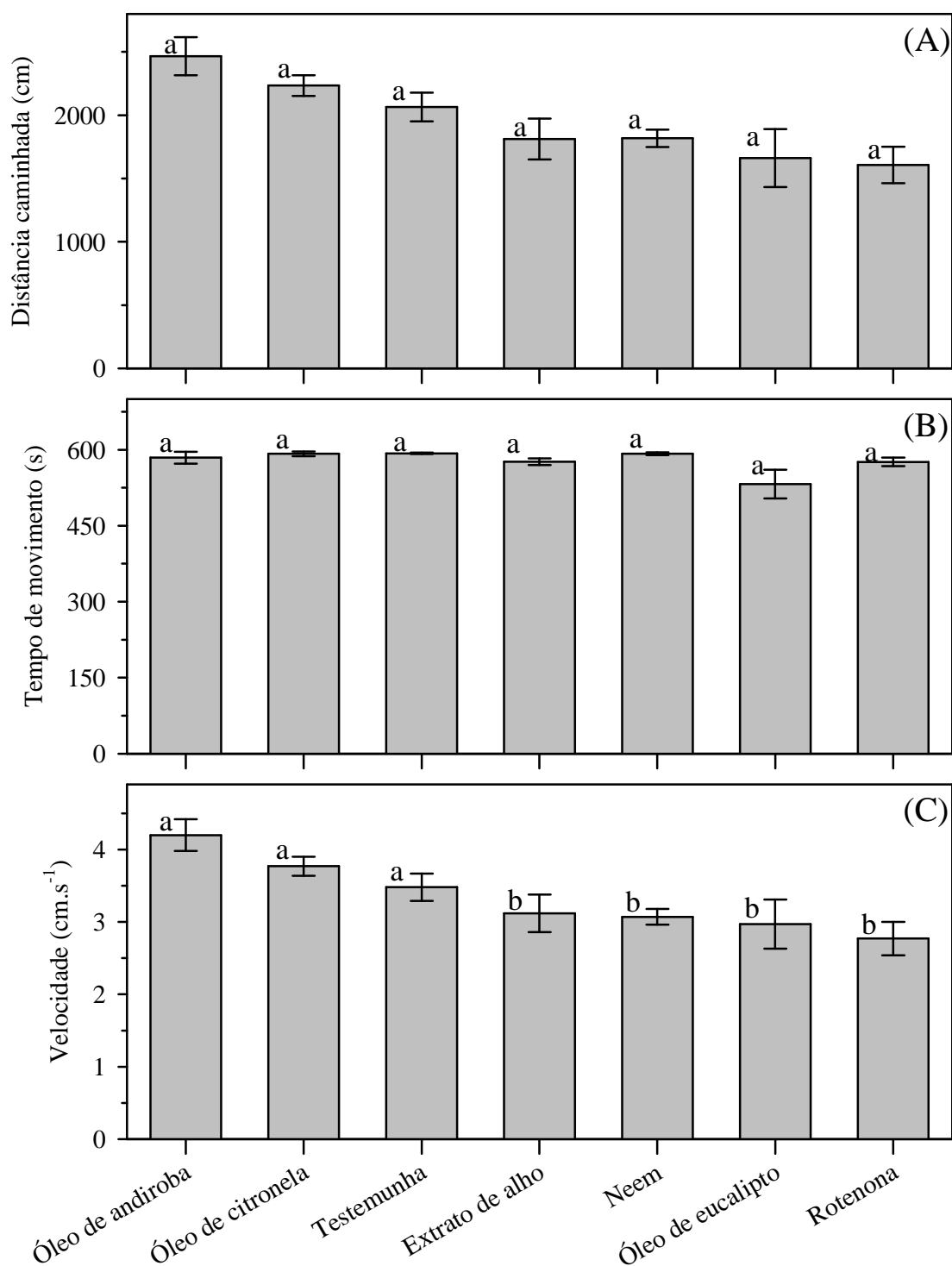


Figura 8. (A) Distância percorrida, (B) tempo e (C) velocidade de movimentação de adultos da abelha *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em função da aplicação da concentração recomendada de seis inseticidas botânicos. $\bar{\text{I}}$ = Erro padrão. Os histogramas seguidos pela mesma letra minúscula não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

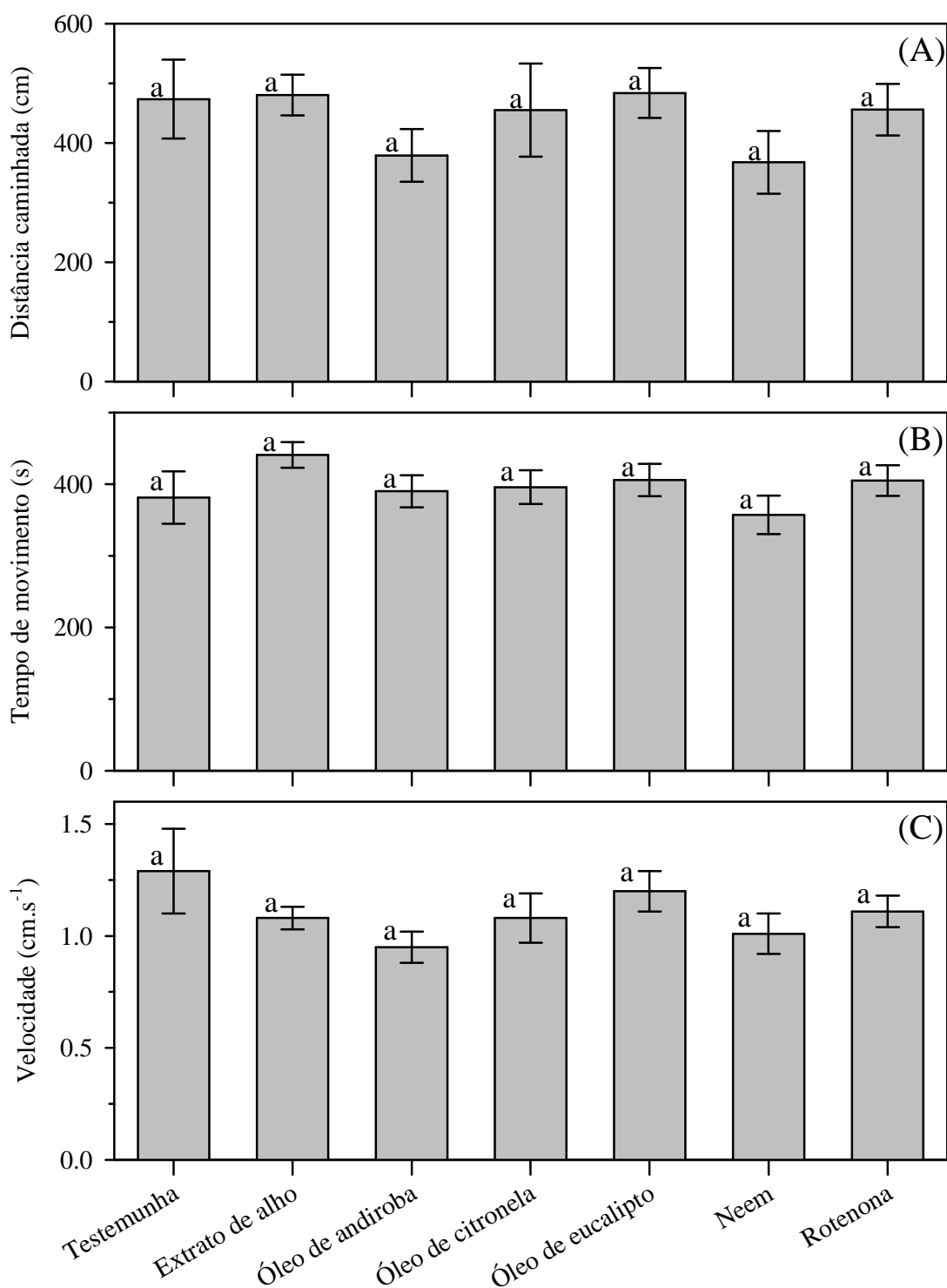


Figura 9. (A) Distância percorrida, (B) tempo e (C) velocidade de movimentação de adultos de *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae) em função da aplicação da concentração recomendada de seis inseticidas botânicos. $\bar{\text{I}}$ = Erro padrão. Os histogramas seguidos pela mesma letra minúscula não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

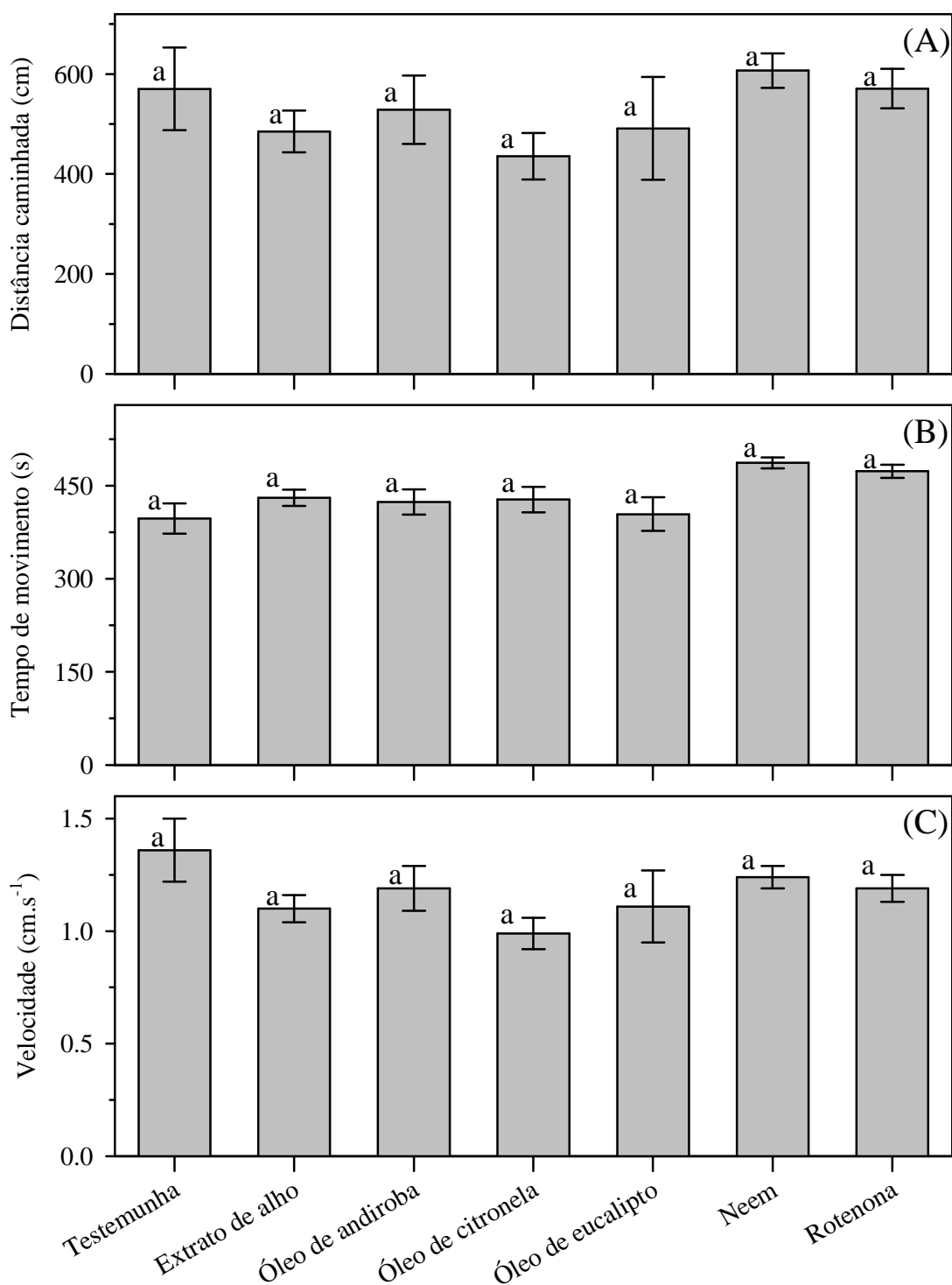


Figura 10. (A) Distância percorrida, (B) tempo e (C) velocidade de movimentação de adultos da abelha *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) em função da aplicação da concentração recomendada de seis inseticidas botânicos. I = Erro padrão. Os histogramas seguidos pela mesma letra minúscula não diferem, entre si, pelo teste Scott-Knott a $p < 0,05$.

4. DISCUSSÃO

4.1. Toxicidade dos inseticidas botânicos as abelhas *N. testaceicornis*, *T. angustula* e *A. mellifera*

Todos os inseticidas botânicos estudados foram tóxicos às larvas e adultos de *A. mellifera*, sendo que o mais tóxico aos adultos foi o neem e às larvas além deste inseticida também a rotenona e o óleo de citronela foram os mais tóxicos. Para adultos de *T. angustula* somente a rotenona e o extrato de alho não foram tóxicos, sendo o mais tóxico o óleo de citronela. Nenhum dos inseticidas botânicos estudados apresentou toxicidade aos adultos de *N. testaceicornis*. O neem exerceu seu efeito tóxico de forma lenta, já os demais inseticidas de forma rápida. Portanto, diferentemente do que muitos acreditam, os inseticidas botânicos podem apresentar efeito deletério sobre as abelhas assim como os inseticidas organo-sintéticos (Barker, 1990; Cintra *et al.*, 2002; Bogdanov, 2006). Assim é necessário o manejo das colméias quando se aplicar inseticidas botânicos nas lavouras de forma a minimizar o impacto destes produtos sobre as abelhas.

Outro fato importante é que mesmo os inseticidas botânicos com ação mais rápida levaram mais de algumas horas para exercerem sua atividade tóxica sobre os adultos das abelhas. Este fato indica que as abelhas ao visitarem lavouras onde se aplicaram inseticidas botânicos transportariam no seu corpo, no néctar e no pólen, resíduos destes produtos para as colméias e estes assim poderiam exercer sua ação tóxica sobre suas crias como verificado neste trabalho.

Desta forma, torna-se necessário a implantação de práticas que minimizem as intoxicações das colméias. Segundo Ripper *et al.* (1951) a seletividade pode ser classificada em ecológica ou fisiológica. Para as abelhas é necessário o uso da seletividade ecológica que se relaciona com formas de utilização dos inseticidas de modo a reduzir a exposição das abelhas a esses inseticidas (Pedigo, 1999). Este objetivo pode ser atingido através da aplicação dos inseticidas em horários em que as abelhas apresentam menor taxa de forrageamento evitando o contato dessas com os inseticidas. Isto pode ser obtido em aplicações ao final do período da tarde onde é baixa a presença de abelhas nas lavouras. Outra prática que pode minimizar o impacto dos inseticidas

botânicos sobre as abelhas é o fechamento da entrada da colméia e realização de alimentação artificial da colméia durante as pulverizações para se evitar que as abelhas visitem as lavouras no dia da aplicação dos inseticidas.

Outro fato importante é que alguns inseticidas não tiveram efeito sobre as abelhas sugerindo que alguns inseticidas botânicos podem apresentar rápida degradação e permanecerem menos tempo exercendo seu efeito tóxico sobre as abelhas (Goring *et al.*, 1975; Chiu, 1988; Antonious, 2004). Fato esse, que permite o controle de pragas sem, portanto afetar o rendimento das colônias de abelhas.

4.2. Efeito dos inseticidas botânicos no comportamento das abelhas *N. testaceicornis*, *T. angustula* e *A. mellifera*

Verificou-se que todos os inseticidas botânicos tiveram efeito de repelência aos adultos de *A. mellifera*, sendo que nenhuma abelha visitou o xarope com óleo de citronela. Este efeito de repelência destes inseticidas botânicos sobre *A. mellifera* pode ser utilizado de várias formas no manejo das colméias. Uma das formas de sua utilização é a inclusão destes produtos repelentes nas caldas com inseticidas organo-sintéticos a serem pulverizadas em épocas de floração o que reduziria o impacto destes inseticidas sobre esta abelha. Outra forma de utilização seria a aplicação destes inseticidas botânicos em faixas. Assim as abelhas teriam a opção de visitar e polinizar as plantas das faixas não pulverizadas já que as faixas de cultivo pulverizadas seriam menos preferidas devido ao efeito de repelência destes inseticidas botânicos a estas abelhas.

Observou-se no bioensaio de comportamento de movimentação que o extrato de alho, neem, rotenona e óleo de eucalipto diminuíram a velocidade de movimentação de adultos de *A. mellifera*. Este fato indica que estes inseticidas botânicos têm efeito de arrestância sobre esta abelha já que este é um efeito de contato que faz com que os insetos tendem a parar ou tornar seus movimentos mais lentos (Doskotch *et al.*, 1980; Wu *et al.*, 2008). Este efeito de arrestância destes inseticidas botânicos pode ser usado no manejo das colméias de forma semelhante ao discutido para o efeito repelente destes inseticidas.

5. CONCLUSÕES

- ✓ Neem, rotenona, extrato de alho e os óleos de andiroba, citronela e eucalipto têm efeito tóxico e de repelência sobre a abelha *Apis mellifera*.
- ✓ O extrato de alho, neem, rotenona e óleo de eucalipto têm efeito de arrestância sobre operárias de *A. mellifera*.
- ✓ Neem e os óleos de andiroba, citronela e eucalipto têm efeito tóxico sobre operárias da abelha *Tetragonisca angustula*.
- ✓ Os inseticidas botânicos extrato de alho, óleo de andiroba, óleo de citronela, óleo de eucalipto, neem e rotenona não apresentaram efeito tóxico sobre operárias da abelha *Nannotrigona testaceicornis*.

6. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, n.2, p.265-267. 1925.
- Anjos, N. & Santana, D. L. Q. Alterações deletérias no comportamento de *Atta laevigata* (F. Smith) e *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae), causadas por folhas de *Eucalyptus* spp. **Sociedade Entomológica do Brasil** v.23, n.1, p.25-30. 1994.
- Antonious, G. F. Residues and half-lives of pyrethrins on field-grown pepper and tomato. **Journal of environmental science and health part B- pesticides food contaminants and agricultural wastes**, v.39, n.4, p.491-503. 2004.
- Arnason, J. T.; Philogene, B. J. R.; Morand, P. **Insecticide of plant origin**. Washington: American Chemical Society, v.387, p.214. 1990.
- Barker, R. J. **Poisoning by plants**. London: Cornell University Press. 1990. p.309-315.
- Bell, A.; Fellows, L. E.; Simmonds, M. S. J. Natural products from plants for the control of insect pests. In: Hodgson, E. & Kuhr, R. J. (Ed.). **Safer insecticide development and use**. New York and Basel: Marcel Dekker, 1990. p.337-383.
- Benedek, P. & Gaal, E. The effect of insect pollination on the seed onion, with observations on the behaviour of honeybees on the crop. **Journal Apicultural Research**, v.11, n.3, p.175-180. 1972.
- Bogdanov, S. Contaminants of bee products **Apidologie**, v.37. 2006.
- Brito, G. G.; Costaii, E. C.; Maziero, H.; Brito, A. B. Dörr, F. A. Preferência da broca-das-cucurbitáceas *Diaphania nitidalis* Cramer, 1782 (Lepidoptera: Pyralidae) por cultivares de pepineiro em ambiente protegido. **Ciência Rural** v.34, n.2, p.577-579. 2004.

- Brunherotto, R. & Vendramim, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v.30, p.455-459. 2001.
- Chagas, A. C. S.; Passos, W. M.; Prates, H. T.; Leite, R. C.; Furlong, J. Fortes, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp. em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, p.247-253. 2002.
- Chiu, S. F. Recent advances in research on botanical insecticides in China. In: Arnason, J. T. P., B.J.R.; Morand, P. (Ed.). **Insecticide of plant origin**. Washington: American Chemical Society, v.387, 1988. p.69-77.
- Cintra, P.; Malaspina, 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.
- Cloyd, R. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better then conventional insecticide? **Illinois Pesticide Review**, v.17, p.1-3. 2004.
- Corbett, S. A.; Williams, I. H.; Osborne, J. L. Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community. **Bee World**, v.2, n.72, p.47-59. 1991.
- Couto, R. H. N. & Couto, L. A. **Apicultura: manejo e produtos**. Jaboticabal: FUNEP. 2002. 191 p.
- Doskotch, R. W.; Cheng, H. Y.; Odell, T. M.; Girard, L. Nerolidol: an antifeeding sesquiterpene alcohol for gypsy moth larvae from *Melaleuca leucadendron*. **Journal of chemical ecology**, v.6, n.4, p. 45-851. 1980.
- Freitas, B. M. **The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale* L.)**. University of Wales: Cardiff, UK. 1995. 197 p.
- Freitas, C. J. P.; Pereira, E. J. G.; Cordeiro, E. M. G.; Della Lucia, T. M. C.; Tótolac, M. R.; Guedes, R. N. C. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: magnitude, costs and behavior. **Crop Protection**. 2008. (Em prelo).

- Gioanetto, F. & Chavez, E. C. Desarrollo actual de las investigaciones alelopáticas de la producción de insecticidas botánicos en Michoacán. In: (Ed.). **Simposio Nacional sobre sustancias vegetales y minerales en el combate de plagas**. Acapulco: Memorias: Acapulco: SME, v.6, 2000. p.123-134.
- Goring, C. A. I.; Laskowski, D. A.; Hamaker, J. W.; Meikle, R. W. Principles of pesticide degradation in soil. In: Haque, R. & Freed, V. H. (Ed.). **Environmental Dynamics of Pesticides**. New York: Plenum Press, 1975. p.135-72.
- Guerra, M. S. **Receituário caseiro: alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e seus produtos**. Brasília: EMBRATER. 1985. 166 p.
- Hedin, P. A.; Menn, J. J.; Hollingworth, R. M. Development of natural products and their derivatives for pest control in the 21st century. In: Hedin, P. A.; Menn, J. J.; Hollingworth, R. M. (Ed.). **Natural and engineered pest management agents**. Washington: American Chemical Society 1994. p.2-10.
- Isman, M. B. Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. **Phytoparasitica**, v.25, n.4, p.339-344. 1997.
- Isman, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45–66. 2006.
- Kerr, W. E.; Carvalho, G. A.; Nascimento, V. A. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação**. Paracatu, MG: Fundação Acangau. 1996. 144 p.
- Klaassen, C. D. & Watkins, J. B. **Essentials of toxicology**. New York: McGraw Hill. 2003. 533 p.
- Lindauer, M. & Kerr, W. E. Communication between the workers of stingless bees. **Bee World**, v.41, p.29-41; 65-71. 1960.
- Maeta, Y.; Tezuka, T.; Nadano, H.; Suzuki, K. Utilization of the Brazilian stinglessbee, *Nannotrigona testaceicornis*, as a pollinator of strawberries. **Honeybee Science**, v.13, p.71-78. 1992.
- Malerbo Souza, D. T.; Charlier, A.; Rossi, M. M.; Pinto, A. S.; Nogueira-Couto, R. H. Métodos para atrair e repelir a abelha *Apis mellifera* (L.) em cultura de maracujá

- amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa flavicarpa* Deg.). **Acta Scientiarum**, v.25, n.1, p.1-8. 2003.
- Mann, J. **Secondary metabolism**. Oxford: Clarendon. 1995. 374 p.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 19 de janeiro de 2009.
- Martinez, S. S. & Emden, H. F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin **Neotropical Entomology**, v.30, p.113-125. 2001.
- Mazzonetto, F. & Vendramim, J. D. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado **Neotropical Entomology**, v.32, p.145-149. 2003.
- Mcgregor, S. E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: Agriculture Handbook. 1976. 411 p.
- Pedro, M. S. R. & Camargo, J. F. M. Biodiversidade do estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX. Apoidea, Apiformes. In: Brandão, C. R. F. & Cancellato, E. M. (Ed.). **Invertebrados Terrestres São Paulo – FAPESP**, 2000. p.193-211.
- Mordue, A. J. & Blackwell, A. Azadirachtin: a update. **Journal of Insect Physiology**, v.39, p.903-924. 1993.
- Mordue, A. J. & Nisbet, A. J. Azadirachtin from de neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica Brasil**, v.29, p.615-632. 2000.
- Nakano, O. & Cortez, J. Ensaio de controle às pragas do milho armazenado, com óleo de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker) e sua eficiência comparada ao malathion. **Revista da Agricultura**, v.42, n.3, p.95-98. 1967.
- Nogueira Neto, P. **Vida e criação das abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Editora Nogueirapis. 1997. 445 p.
- Olkowski, W.; Daar, S. Olkowski, H. **The organic gardener's handbook of natural insect and disease control**. Emmaus, Pennsylvania: Rodale. 1995.

- Pedigo, L. P. **Entomology and Pest Management**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall. 1999.
- Penteado, S. R. **Defensivos alternativos e naturais para uma agricultura saudável**. Campinas: CATI. 1999. 79 p.
- Regazzi, A. J. Teste para verificar a identidade de modelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31 n.1, p.1-17. 1996.
- Rembold, H. & Lackner, B. Rearing of honeybee larvae in vitro: effect of yeast extract on queen differentiation **Journal of Apicultural Research** v.20, p.165-171. 1981.
- Ripper, W. E.; Greenslade, R. M.; Hartley, G. S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v.44, p.448-449. 1951.
- Saito, M. L. As plantas praguicidas. **Informativo meio ambiente e agricultura**, v.12, n.47, p.1-11. 2004.
- Sampaio, P. T. B. Andiroba (*Carapa guianensis*). In: Clay, J. W.; Sampaio, P. T. B.; Clement, C. R. (Ed.). **Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de utilização**. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000. p.243-251.
- Santos, S. A. B.; Roselino, A. C. Bego, L. R. Ecology, behavior and bionomics pollination of cucumber, *Cucumis sativus* L. (Cucurbitales: Cucurbitaceae), by the stingless bees *Scaptotrigona aff. depilis* Moure and *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier (Hymenoptera: Meliponini) in Greenhouses. **Neotropical Entomology** v.37, n.5, p.506-512 2008.
- Sarría, A. L. F.; Yamane, E. S.; Bueno, F. C.; Matos, A. P.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G.; Vieira, P. C.; Bueno, O. C. Atividade inseticida de limonóides isolados de *Carapa guianensis* sobre a lagarta-do-cartucho-do-milho e a formiga cortadeira. In: (Ed.). **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Águas de Lindoia: São Paulo: SBQ, v.1, 2007. p.112.
- Schoonhoven, L. M.; Jermy, T.; Van Loon, J. J. **Insect-Plant Biology from physiology to evolution**. Londres: Chapman & Hall. 1998.

- Scott, A. J. & Knott, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics, Washington**, v.30, n.3, p.507-512. 1974.
- Silva, C. C.; Costa, E. G. C.; Ramos, H. T. F.; Guimarães, R. T.; Garcia, A. H. Não preferência para oviposição de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) tratado com diferentes produtos de origem vegetal. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, v.26, n.2, p.51-56. 1996.
- Silva, I. C.; Message, D.; Cruz, C. D. Silva, M. V. G. B. Aplicação de análises multivariadas para determinação da casta de abelhas *Apis mellifera* L. (africanizadas), obtidas em laboratório. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.635-640. 2005.
- Silva Junior, A. A. **Essentia herba – plantas bioativas**. Florianópolis: Epagri, v.1. 2003. 441 p.
- Oikada, S. T.; Hiraku, Y.; Kawanishi, M.; Kawanishi, S. Mechanism for generation of hydrogen peroxide and change of mitochondrial membrane potential during rotenone induced apoptosis. **Life Science**, v.73, p.3277-3288. 2003.
- Thomas, C. J. & Callaghan, A. The use of garlic (*Allium sativa*) and lemon peel (*Citrus limon*) extracts as *Culex Pipiens* larvicides: persistence and interaction with na organophosphate resistance mechanism. **Chemosphere**, v.39, p.2489-2496. 1999.
- Vendramim, J. D. & Castiglione, E. Aleloquímicos, resistência e plantas inseticidas. In: Guedes, J. C.; Costa, I. D.; Castiglione, E. (Ed.). **Bases e Técnicas do Manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000. p.113-128.
- Wiesbrook, M. L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide review**, v.17, n.3. 2004.
- Williams, I. H.; Corbet, S. A. & Osborne, J. L. Beekeeping, wild bees and pollination in the European community. **Bee World**, v.72, n.4, p.170-180. 1991.
- Wu, B.; Kashiwagi, T.; Kuroda, I.; Chen, X. H.; Tebayashi, S. Kim, C. S. Antifeedants against *Locusta migratoria* from the sapanese Cedar, *Cryptomeria japonica* II. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.72, n.2, p.611-614. 2008.