

## EFEITOS SUB-LETAIS DOS PESTICIDAS AGRÍCOLAS E SEUS IMPACTOS NO MANEJO DE POLINIZADORES DOS AGROECOSSISTEMAS BRASILEIROS

Breno Magalhães Freitas <sup>1,\*</sup> & José Nunes Pinheiro <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará. Caixa Postal: 12168. Fortaleza, CE, Brasil. CEP: 60021-970.

<sup>2</sup> Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará. Caixa Postal: 12168. Fortaleza, CE, Brasil. CEP: 60021-970.

E-mails: freitas@ufc.br, nunesp12@bol.com.br

### RESUMO

As normas internacionais utilizadas como padrão para estudos em laboratórios dos riscos de pesticidas agrícolas para polinizadores concentram-se, primariamente, na mortalidade de abelhas melíferas (*Apis mellifera*), que são os agentes polinizadores mais comumente utilizados na grande maioria das culturas agrícolas. No entanto, efeitos sub-letais, decorrentes da exposição de abelhas melíferas a baixos níveis de doses e/ou aplicações, principalmente a longo prazo, são pouco conhecidos e não têm sido utilizados nos estudos de risco para fins de discussão. O presente trabalho revisa as informações disponíveis na literatura sobre os efeitos sub-letais de pesticidas nos agentes polinizadores, particularmente abelhas, na perspectiva de se interpretar e correlacionar os resultados obtidos sob condições de testes de laboratório, de semi-campo e campo às condições de agroecossistemas brasileiros específicos e definir estratégias de manejo adequadas.

**Palavras-chave:** Abelhas, agricultura, defensivos agrícolas, boas práticas de manejo, sustentabilidade de ecossistemas.

### ABSTRACT

**SUB-LETHAL EFFECTS OF AGRICULTURAL PESTICIDES AND THEIR IMPACTS ON THE MANAGEMENT OF POLLINATORS IN BRAZILIAN AGROECOSYSTEMS.** International standards used as parameters for laboratory studies on the risks of agricultural pesticides to pollinators are concentrated primarily in the mortality of honey bees (*Apis mellifera*), which are the pollinators most commonly used in agriculture. However, sub-lethal effects due to the exposure of honey bees to low levels of doses and/or applications, especially in the long term, are little known and have not been considered for discussion in risk assessment studies. This paper reviews the available literature on the sub-lethal effects of pesticides on pollinators, particularly bees, aiming to interpret and correlate the results obtained under conditions of laboratory tests, semi-field and field to the conditions of specific Brazilian agroecosystems and to define appropriate strategies for their management.

**Keywords:** Bees, agriculture, pesticides, good management practices, ecosystem sustainability of ecosystems.

### RESUMEN

**EFFECTOS SUBLETALES DE LOS PESTICIDAS AGRÍCOLAS Y SUS IMPACTOS EN EL MANEJO DE POLINIZADORES DE LOS AGROECOSISTEMAS BRASILEÑOS.** Las normas

internacionais utilizadas como estándar para estudios en laboratorio de los riesgos de pesticidas agrícolas para polinizadores se concentran principalmente en la mortalidad de abejas melíferas (*Apis mellifera*), que son los agentes polinizadores más comúnmente utilizados en la gran mayoría de los cultivos agrícolas. Sin embargo, efectos subletales causados por la exposición de abejas melíferas a bajas dosis y/o aplicaciones, principalmente a largo plazo, son poco conocidos y no han sido utilizados en los estudios de riesgo para fines de discusión. El presente trabajo revisa la información disponible en la literatura sobre los efectos subletales de pesticidas en los agentes polinizadores, particularmente en abejas, con la perspectiva de interpretar y correlacionar los resultados obtenidos bajo condiciones de pruebas de laboratorio, de semicampo y campo a las condiciones de agroecosistemas brasileños específicos y definir estrategias de manejo adecuadas.

**Palabras clave:** Abejas, agricultura, defensas agrícolas, buenas prácticas de manejo, sostenibilidad de ecosistemas.

## INTRODUÇÃO

Cerca de 75% das 240.000 espécies de plantas existentes no mundo dependem de polinização (pelo vento, pela água, por animais como algumas aves, morcegos, insetos e outros). As abelhas, no entanto, são consideradas os principais polinizadores e responsáveis pela polinização de aproximadamente 73% das espécies cultivadas no mundo (FAO, 2004, Ricketts *et al.* 2008). Recentemente, Klein *et al.* (2007) estudaram dados de 200 países e concluíram que a produção de frutas, vegetais e sementes de 86 das culturas globais mais importantes dependem da polinização por animais, enquanto que apenas 28 não dependem. A importância dos agentes polinizadores na produtividade agrícola associada a constatações da baixa diversidade e quantidade de polinizadores nos agroecosistemas mundiais vêm gerando preocupações entre governos, ONGs, pesquisadores e produtores (FAO 2004, Winfree *et al.* 2007). Entre os vários fatores impactantes sobre os polinizadores, o uso inadequado e/ou incorreto de pesticidas agrícolas está relacionado como sendo dos mais danosos (Freitas *et al.* 2009). No Brasil, há poucas informações sobre os efeitos letais e sub-letais dos defensivos agrícolas nos polinizadores (Malaspina & Souza 2008, Malaspina *et al.* 2008, Pinto & Miguel 2008). Pinheiro & Freitas (2010) apresentaram os efeitos e doses letais ( $DL_{50}$ ) dos pesticidas de uso autorizado no Brasil sobre polinizadores, os diferentes impactos das formulações e uso no país e propuseram boas práticas de manejo visando minimizar os efeitos negativos e racionalizar o uso dos pesticidas nos

ecosistemas agrícolas brasileiros. Essas práticas de manejo, no entanto, devem ser elaboradas com base em parâmetros quantitativos, que definam o tamanho ou extensão do problema, levando em conta não somente os efeitos letais (mortalidade), mas também outros efeitos tóxicos (sub-letais), principalmente à longo prazo.

A presença de abelhas, em especial as melíferas, em extensas áreas com monoculturas, pode evidenciar níveis de poluição ambiental dentro de limites aceitáveis (Bromenshenk *et al.* 1991, Kevan 1999), contudo não garante que a colônia esteja em bom estado hígido simplesmente porque não se consegue observar, aparentemente, aumento de mortalidade de abelhas expostas a pesticidas usados para o controle de pragas em uma cultura específica, instalada naquelas áreas (Haynes 1988, Riedl *et al.* 2006). Efeitos sub-letais, decorrentes da exposição de abelhas melíferas a baixos níveis de doses e/ou aplicações, principalmente à longo prazo, são pouco conhecidos e não têm sido considerados nos estudos de risco para fins de discussão (NRCC 1981, Kevan 1999, Thompson 2003, Malaspina & Silva-Zacarin 2006).

Em um raro exemplo, Thompson (2003) analisou os efeitos sub-letais de pesticidas sobre abelhas e o seu potencial para uso em estudos de risco, baseados na coletânea de vários artigos publicados por outros autores, disponíveis na bibliografia internacional, que constitui um importante subsídio para o presente trabalho. No levantamento de Thompson (2003), a grande maioria dos trabalhos enfoca o efeito dos pesticidas sobre abelhas melíferas, particularmente

*Apis mellifera* L., onde, para condições de campo, a taxa de aplicação é usada como uma medida indireta de exposição, enquanto que outros estudos não envolvem aplicações de campo, mas, antes, são utilizadas doses tóxicas, via contato (na abelha) ou ingestão (na alimentação).

Destra forma, o objetivo do presente trabalho é, através da coletânea de dados disponíveis na literatura, analisar os efeitos sub-letais de pesticidas sobre agentes polinizadores, particularmente abelhas, na perspectiva de se interpretar e correlacionar os resultados obtidos sob condições de testes de laboratório, de semi-campo e campo às condições de agroecossistemas brasileiros específicos e definir estratégias de manejo visando otimizar o benefício simultâneo dos pesticidas e polinizadores para as culturas.

#### **NORMAS INTERNACIONAIS UTILIZADAS COMO PADRÃO PARA ESTUDOS DE RISCO DOS PESTICIDAS**

As normas internacionais utilizadas como padrão para estudos de risco dos pesticidas agrícolas em laboratório são as produzidas pela EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organisation (1992), EPA - Environment Protection Agency (1996) e OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development (1998a, 1998b) e se concentram, primariamente, na mortalidade de abelhas melíferas (*Apis mellifera*), que são os agentes polinizadores mais comumente utilizados na grande maioria das culturas agrícolas. A norma EPA (1996) para toxicidade aguda por contato prescreve que, além da mortalidade, sejam registrados outros sinais de intoxicação, atribuíveis ou não à substância-teste, tais como letargia, ataxia e hipersensibilidade, dentre outros efeitos sub-letais, relatando-se o início, duração, severidade e o número de abelhas afetadas, para cada nível de dose. As normas EPPO (1992) e OECD (1998a, 1998b) embora requeiram que comportamentos anormais sejam registrados, não apontam o tipo de efeito específico a ser relatado. O ponto final dos estudos laboratoriais é a confecção de curvas de mortalidade em função dos níveis de dose, para determinação da  $DL_{50}$ .

Os estudos de risco são feitos com base em dados gerados em laboratório ( $DL_{50}$ ) e em testes sob condições de semi-campo e campo, para moléculas

com quociente de risco maior ou igual a 50, com modo de ação específico, ou no caso de observação de efeitos indiretos, tais como efeito retardado ou modificação no comportamento das abelhas (EPPO 1992, EPPO 1993, EPA 1996). Entretanto, Thompson (2003) enfatiza a necessidade de que os testes de laboratório devam ser capazes de explicar e fornecer uma base para avaliar o desempenho dos pesticidas com quociente de risco maior que 50, sob condições de semi-campo e campo, uma vez que existe um grande número de pesticidas que, embora usados sob condições de baixos níveis de aplicação ou concentração, resultam em efeitos letais ou sub-letais comportamentais quando em campo. Isto não ocorre hoje, talvez, devido ao fato de que os testes de laboratório não levam em conta o efeito que os estímulos ambientais, tais como a atratividade das flores, exercem sobre os polinizadores, de tal modo a sobrepujar os efeitos nocivos dos pesticidas (Naumann *et al.* 1994, Mayer & Lunden 1999). De qualquer forma, segundo Thompson (2003), as normas EPA e EPPO são importantes por fornecer um suporte dentro do qual os dados podem ser coletados e analisados.

Suchail *et al.* (2000) verificaram que os efeitos nem sempre são lineares, ou seja, a mortalidade e os efeitos sub-letais podem não ser simples função da dose. Os autores observaram que a ação de contato do inseticida imidaclopride sobre abelhas, a baixas doses, causou mortalidade bifásica, enquanto que para altas doses a mortalidade foi demorada. Ademais, há, presentemente, poucos dados disponíveis na literatura mundial referentes a níveis reais de exposição das abelhas, sob condições de campo, em relação àqueles decorrentes de efeitos sub-letais sob condições de laboratório. Ainda, deve-se ressaltar o fato de que existem poucos dados disponíveis sobre efeitos sub-letais em laboratório para compostos que, devido à sua baixa toxicidade aguda ou baixas taxas de aplicação, não são submetidos a testes mais detalhados, sob condições de semi-campo e campo, mas que podem ter notáveis efeitos sobre a colônia, quer devido a uma característica em particular da molécula ou de um componente específico da sua formulação comercial, tais como solventes irritantes, por exemplo.

As normas EPPO (1992) para estudos mais específicos também não são bem definidas, mas limitadas, tomando-se como exemplo o fato de que as orientações para o teste em gaiolas recomendam

a descrição das atividades de forrageamento e comportamento das abelhas, em relação ao tipo de substância-teste, e que, para o teste de campo, a avaliação do efeito dos pesticidas sobre as atividades de forrageamento e comportamento das abelhas, na cultura e em torno da colméia, e sobre o status da cria, é feito por um período de somente duas a três semanas, não levando em consideração os efeitos de longo prazo e sua influência sobre o comportamento e sobrevivência da colônia. O fato é que, quer sob condições de laboratório ou aquelas definidas para estudos mais específicos, estas normas, estabelecem diretrizes que permitem a avaliação dos efeitos dos pesticidas sobre as abelhas, individualmente, porém não levam em consideração a interação da colônia com o ambiente, regulada por sinais hormonais e/ou de estresse. Apesar das limitações apontadas, as normas existentes estabelecem uma base para que se possa correlacionar os efeitos letais e sub-letais observados em abelhas expostas a pesticidas sob condições de laboratório e em testes de semi-campo e campo, de modo a prover uma ampla base de dados para interpretação e discussão dos mesmos em níveis mais próximos possível da realidade, através de um processo contínuo de retroalimentação (*feedback*).

### **EFEITOS SUB-LETAIS DOS PESTICIDAS SOBRE O COMPORTAMENTO E SOBREVIVÊNCIA DAS ABELHAS**

#### *INSETICIDAS INIBIDORES DA ACETILCOLINESTERASE – ORGANOFOSFORADOS E CARBAMATOS*

As abelhas melíferas são insetos sociais que apresentam um extraordinário nível de organização de trabalho por castas. Quando os indivíduos de cada casta desempenham bem a tarefa que lhes cabe a colônia torna-se forte, o que se traduz em colméias híidas e produtivas (Johansen & Mayer 1990). Deste modo, qualquer perturbação que possa alterar a divisão de trabalho na colméia pode redundar em drásticos efeitos no que diz respeito à sobrevivência da colônia.

Mackenzie & Winston (1989) verificaram que o diazinom afeta a longevidade e a divisão de trabalho em *Apis mellifera* L., sendo estes efeitos mais pronunciados em abelhas mais novas, provavelmente

devido aos baixos níveis de enzimas destoxicadoras (Smirle 1993), e relacionados à duração do período de tempo requerido para forrageamento e transporte do néctar. Segundo os autores, a mudança na seqüência de tarefas pode também afetar a longevidade, com redução no período de vida de 20% em abelhas expostas às mesmas doses de diazinom. Nation *et al.* (1986) submetem abelhas melíferas (*A. mellifera* L.) à exposição crônica de vários inseticidas organofosforados e carbamatos, em baixos níveis, via dieta artificial, e constataram que eles afetaram a divisão de trabalho a tal ponto de permitir severos danos da traça da cera (*Galleria mellonella* L.) em muitas colméias, que apresentaram poucos favos para cria.

Inseticidas organofosforados e carbamatos afetam também a habilidade das abelhas comunicarem a fonte de alimento a outras abelhas da colônia por meio da “dança do oito”, por impedir a orientação do ângulo da dança. Schricker & Stephen (1970) constataram que abelhas de *A. mellifera* L. expostas a doses orais sub-letais de paratiom metílico não foram capazes de comunicar a direção de uma fonte artificial de alimento a outras abelhas da colméia. O ângulo de dança das abelhas expostas foi restabelecido aos padrões normais 23 horas após a exposição, indicando que o paratiom metílico parece afetar a orientação das abelhas em relação à gravidade. Os autores constataram, também, que o inseticida, por provocar erros na dança-padrão das abelhas mais velhas, em períodos acima de 6 horas, teve um efeito indireto na má orientação das abelhas novças. Este produto ainda é bastante utilizado no Brasil, em um grande número de culturas, incluindo extensas áreas com monoculturas, tais como soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*) e algodão (*Gossypium* spp.), o que pode causar grandes impactos, principalmente sobre abelhas nativas, devido ao seu persistente efeito residual (Brasil 2009, Pinheiro & Freitas 2010).

No que diz respeito aos efeitos sobre a colônia, Haynes (1988), revisando a bibliografia internacional disponível, constatou que doses sub-letais de inseticidas neurotóxicos, incluindo os organofosforados, causam um decréscimo na produção de progênies. Isto pode ser um aspecto muito relevante para abelhas melíferas, dado que o decréscimo na produção de crias e de novas abelhas é mais danoso que a perda de abelhas forrageadoras (Thompson 2003). Dimetoato,

em baixos níveis (1ppm), é muito danoso para as colônias, no campo, diminuindo as atividades de forrageamento, produção de favo e postura de ovos, chegando mesmo a interromper a postura de ovos da rainha (10ppm) (Waller *et al.* 1979), o que não se verifica quando há grande disponibilidade de alimento, ou seja, opções para a escolha de néctar de plantas não contaminadas pelo defensivo para ser levado para dentro da colméia (Stoner *et al.* 1983). Outros inseticidas organofosforados, tais como carbofuran e paratiom metil, afetam a capacidade da abelha rainha de produzir os feromônios que inibem a produção de novas rainhas pela colônia, de evitar que outras rainhas sejam eleitas, sua capacidade de postura e podem causar a sua morte, seja por exposição, ou indiretamente, pela redução do número de abelhas operárias que atendem à rainha (Stoner *et al.* 1985). A exposição aos inseticidas acefato, dimetoato e fentiom culminou em incapacidade das colônias para reelegerem rainhas (Stoner *et al.* 1982, 1983, 1985).

Atkins & Kellum (1986) verificaram que dimetoato e malatiom podem causar defeitos morfogênicos em adultos de *A. mellifera* expostos na fase de larva, tais como pequeno tamanho do corpo, malformação ou diminuição do tamanho das asas, deformação das pernas e das asas. Davis *et al.* (1988) estudaram em laboratório o efeito de inseticidas sistêmicos sobre o crescimento e desenvolvimento de larvas de *A. mellifera*, em níveis de doses sub-letais para adultos, e constataram que para larvas alimentadas com baixos níveis de dimetoato, 0,313µg/g de geléia real houve um estímulo do crescimento e maturação, perda da forma típica de “C”, extensão dorsal e dorsolateral, hipersensibilidade a estímulos e incapacidade para tecer o fio do casulo. Dado que estes resultados foram similares àqueles obtidos para larvas alimentadas com dietas livres de lipídios, Davis *et al.* (1988) salientam que o dimetoato pode interferir no metabolismo de esteróides ou do ácido 10-hidroxi-2-decanóico, que por sua vez podem regular a atividade secretória do *corpora alata* e alterar a proporção de hormônio juvenil para ecdisônio na larva, estimulando a maturação. Tais efeitos afetam dramaticamente a capacidade dos adultos realizarem as suas tarefas e de forragearem de modo eficaz, podendo resultar em severos efeitos sobre a colônia. Dimetoato ainda é utilizado em áreas de soja, algodão e citros (*Citrus* spp.) no Brasil (Brasil 2009, Pinheiro & Freitas 2010), principalmente, e

pode, a exemplo do paratiom metílico, causar grande impacto sobre abelhas nativas, devido à sua elevada toxicidade residual.

Embora aos piretróides se atribua notáveis efeitos de repelência, há evidências de que isto também ocorre para inseticidas organofosforados. O parâmetro mais usado para se avaliar este efeito é o nível de forrageamento das abelhas. Dentro daquela ótica, Nigg *et al.* (1991) constataram que a capacidade de forrageamento de *A. mellifera* foi inibida quando as abelhas foram alimentadas com solução de sacarose contendo sulfóxido de aldicarb, em níveis sub-letais.

#### *INSETICIDAS QUE ALTERAM A MODULAÇÃO DOS CANAIS DE SÓDIO E A POLARIDADE DA MEMBRANA CELULAR – PIRETRÓIDES*

Os inseticidas piretróides, em níveis recomendados de aplicação no campo, parecem afetar a capacidade das abelhas melíferas retornarem à colméia. Taylor *et al.* (1987) atribuem a redução na capacidade de forrageamento de *A. mellifera* expostas a piretróides de amplo consumo mundial (cipermetrina, permetrina, ciflutrina e fenvalerato) mais a efeitos tóxicos sub-letais que ao efeito de repelência. Abelhas expostas a permetrina perdem sua capacidade de orientação e podem não voltar à colônia, além de apresentarem graves distúrbios de comportamento, tais como irritabilidade, excessiva autolimpeza, abdômen contraído e dança trêmula, o que afeta a capacidade de forrageamento (Cox & Wilson 1984) e a entrada na colméia, ocasião em que podem ser agredidas e rejeitadas pelas abelhas-guarda (Johansen & Mayer 1990). Vandame *et al.* (1995) verificaram que doses sub-letais de deltametrina, abaixo daquelas que afetam os músculos de vôo e coordenação, comprometem a capacidade de retorno de *A. mellifera* à colméia, sugerindo que há falhas na capacidade de incluir ou integrar o padrão visual dos locais marcados em relação a orientação pelo sol. Este efeito pode ser potencializado em regiões de clima frio, uma vez que, somada a ação dos piretróides, as baixas temperaturas podem bloquear a ação dos músculos do vôo envolvidos na termogênese (Belzunces *et al.* 2001). Atualmente, uma séria mortandade de colônias de *Apis mellifera*, denominada Desordem do Colapso de Colônias (DCC), cuja principal característica é a inabilidade das abelhas campeiras retornarem às suas

colônias, vem ocorrendo nos EUA e talvez em outros países ao redor do globo (Stokstad 2007a). Embora os inseticidas piretróides não possam ser descartados como tendo algum papel neste problema, ainda não há evidências concretas que os comprometam (Stokstad 2007a, 2007b).

A habilidade das abelhas para ler e habituar-se aos odores, baseada em sinais, denominada de resposta condicionada, pode ser afetada pela exposição a piretróides e isto pode ter grande impacto sobre as colônias, em virtude da redução na capacidade de detecção dos odores florais e sua associação com a recompensa (néctar). Mamood & Waller (1990) verificaram este efeito em abelhas melíferas (*A. mellifera* L.) expostas a doses sub-letais de permetrina e salientaram que a dificuldade nas respostas olfativas deve-se mais a falhas na leitura que na chamada de memória, com recuperação nas respostas de leitura após a diminuição do efeito residual do inseticida.

Os piretróides causam significativa redução nas progênes de abelhas (Haynes 1988). Fêmeas da abelha cortadora de folhas de alfafa (*Megachile rotundata* F.) expostas a doses sub-letais de deltametrina (20% DL<sub>50</sub>) reduziram em 20% a postura de ovos, durante um período de seis semanas. Bendahou *et al.* (1999) estudaram os efeitos da exposição crônica de abelhas *A. mellifera* a doses sub-letais de cipermetrina 80%, sob condições de campo, via dieta (12,5ppb), e constataram que houve um aumento na taxa de substituição de rainhas, provavelmente devido à interferência do inseticida sobre a capacidade das abelhas atendentes identificarem o feromônio liberado por cada rainha substituída.

Segundo Rieth & Levin (1988, 1989), os piretróides desempenham a melhor ação de repelência entre as classes de inseticidas existentes no mercado. A ação repelente pode ser observada através dos efeitos sub-letais após a exposição por contato do tarso e região ventral do abdômen (Mamood & Waller 1990). A temperatura predominante nas áreas onde as colméias estão localizadas tem um papel fundamental neste efeito, uma vez que a capacidade das abelhas retornarem depende da mesma. Assim, em regiões de temperaturas baixas é menos provável que as abelhas retornem à colméia antes da queda (*knockdown*) devido à ação do defensivo (Thompson 2003). Por outro lado, em regiões de temperaturas elevadas e grande intensidade luminosa (regiões de baixa

latitude), o efeito residual dos piretróides pode ser bem menor, devido a rápida decomposição pela luz e/ou acentuado efeito de fumigação, este último no caso de possuírem baixa pressão de vapor (Johansen & Mayer 1990). Estes aspectos talvez expliquem, em parte, a menor repelência dos piretróides sob condições de campo que quando sob condições de testes de laboratório e semi-campo.

Outro aspecto que deve ser levado em consideração para se ter precisão na análise do efeito repelente dos piretróides é a quantificação ou estimativa do número de abelhas na colônia, no início e término dos experimentos, aspecto não levado em consideração por Shires *et al.* (1984), ao constatarem que cipermetrina só teve efeito significativo sobre a mortalidade de abelhas forrageadoras (85%) quando aplicado no campo a altas taxas (20g i.a/ha), com recuperação no dia seguinte. Esse aparente efeito de repelência foi questionado devido ao elevado nível de resíduo no mel e na cera (0,01-0,04mg/kg). Uma vez que os níveis no pólen foram elevados (0,1mg/kg), imediatamente após a aplicação, e decresceram rapidamente, isto pode ser atribuível a uma resposta condicionada.

Todos os piretróides anteriormente mencionados são amplamente utilizados no Brasil, tanto nas grandes culturas - soja, milho, algodão - como naquelas que dependem ainda mais essencialmente do serviço de polinização das abelhas, tais como tomate (*Lycopersicon esculentum*), melão (*Cucumis melo*), maçã (*Malus domestica*), café (*Coffea arabica*), dentre outras (Brasil 2009, Pinheiro & Freitas 2010). Pinheiro & Freitas (2010) apresentam algumas orientações para a aplicação dos produtos pertencentes a esta classe de inseticidas, visando reduzir o impacto sobre as abelhas.

#### INSETICIDAS COMPETIDORES DA ACETILCOLINA PELOS RECEPTORES QUE MEDIAM O IMPULSO NERVOSO – NEONICOTINÓIDES

O imidaclopride talvez seja o inseticida mais utilizado no mundo para o controle de pragas e é registrado no Brasil para um grande número de culturas, sob várias formulações (Brasil 2009, Pinheiro & Freitas 2010). Embora apresente ação neurotóxica, outras características físico-químicas da molécula

conferem-no segurança para aplicações no ambiente. Kirchner (1999), citado por Maus (2003), conduziu um estudo de campo para avaliar o efeito de doses sub-letais de imidaclopride, via solução de sacarose, sobre o comportamento forrageiro e orientação de vôo e verificou que em concentrações de 20ppb as abelhas melíferas perceberam o contaminante e rejeitaram parcialmente o alimento fornecido. Este comportamento de defesa resultou na diminuição do recrutamento de abelhas forrageadoras para níveis de solução com 50ppb ou mais altos. Contudo, para níveis de 100ppb, as abelhas que continuaram a acessar a solução de sacarose marcada não tiveram problemas, para distâncias em torno de 500m, em retornar para a colméia. Isto também contribuiu para a diminuição da atividade de forrageamento, e, segundo Schmuck (1999), talvez se deva mais a reação das abelhas da colônia em não aceitar o néctar contaminado do que o efeito sub-letal sobre as mesmas. No entanto, Bortolotti *et al.* (2003) verificaram que doses sub-letais de imidaclopride alteram o comportamento de campeiras de *Apis mellifera*, afetando o forrageamento e dificultando o retorno à colônia. Kirchner (1998), citado por Schmuck (1999), observou que o imidaclopride afetou o padrão da “dança do oito”, apresentando um fraco efeito na precisão da direção e um significativo efeito na distância comunicada da fonte de alimento pelas abelhas forrageadoras para as da colônia. Segundo o autor, uma vez que a distância é comunicada pelo tempo de dança, o efeito do imidaclopride parece ser sobre a transmissão de sinal efetuado pelos neurônios motores.

Decourtye *et al.* (1999) constataram que imidaclopride reduziu a capacidade da leitura olfativa em abelhas melíferas expostas individualmente a concentrações de 4-40ppb (3-33% DL<sub>50</sub>) e a atividade de vôo e a leitura olfativa em abelhas de colônias expostas a doses mais elevadas, 50ppb via sacarose, mas estes efeitos não foram correlacionados com aqueles constatados após aplicações no campo. Referente a este fato, Maus *et al.* (2003) sugerem que os resultados obtidos em testes de laboratório sejam avaliados com cuidado, dado o estresse artificial que as abelhas sofrem sob condições prevaletentes no laboratório, por não estarem no seu ambiente natural, dentro do contexto social da colônia.

Schmuck *et al.* (2001) estudaram o efeito de abelhas melíferas sujeitas à exposição crônica de doses sub-

letais de imidaclopride, via dieta, e constataram que a dose de 0,02mg/kg (0,004µg/abelha) afetou o ciclo de postura de ovos da rainha e a quantidade de larvas e de pupas de *A. mellifera*. Usando o mesmo procedimento, Tasei *et al.* (2000) verificaram que imidaclopride foi particularmente danoso para *Bombus terrestris*, a baixas doses, na faixa de 10-25µg/kg (0,002-0,005µg/abelha), resultando em baixa emergência de larvas, talvez como consequência da diminuição da quantidade de cria.

Visando aumentar o nível de esclarecimento acerca do incidente ocorrido na França, quando apicultores daquele país atribuíram severas perdas de colônias e de produção de mel ao imidaclopride aplicado via tratamento de sementes, Maus *et al.* (2003) fizeram uma extensiva revisão de literatura, visando analisar, interpretar e correlacionar os resultados de inúmeros trabalhos conduzidos sob condições de laboratório, semi-campo e campo, de vários pesquisadores pertencentes às mais variadas instituições. Concluíram, com base nos estudos-chave referenciados, que o NOAEC (concentração de efeitos adversos não observáveis) foi de 20ppb e que, ao compará-lo com os níveis de resíduos do produto e seus metabólitos no néctar e no pólen, abaixo de 5ppb, o imidaclopride oferece um risco negligenciável para *A. mellifera*.

Fipronil é outro inseticida nicotinóide considerado como de “última geração” e consumido amplamente no mundo e no Brasil. Mayer & Lunden (1999) estudaram os efeitos deste inseticida sobre fêmeas de *A. mellifera*, *Megachile rotundata* e *Nomia melanderi*, sob condições de laboratório e de campo, e observaram que doses sub-letais na faixa de 100 a 500ppm apresentaram efeito repelente, reduzindo a taxa de visita das abelhas melíferas à colza (*Brassica napus*) em florescimento, efeito este não observado sob condições de laboratório, quando o produto foi ministrado via dieta. Colin *et al.* (2004) também estudaram o efeito de fipronil aplicado via dieta, em níveis de contaminação de 70% DL<sub>50</sub>, e constataram que a dose sub-letal de 2µg/kg reduziu a capacidade forrageira de *A. mellifera*. O trabalho realizado com fipronil por Hassani *et al.* (2005) demonstra como esse pesticida interfere com a atividade forrageira da abelha ao afetar a percepção gustativa, o aprendizado olfatório e atividade motora. Segundo estudo realizado na Europa por Collin (2004), dependendo das culturas

e cultivares usados, o fipronil provocou mortalidade de 10 a 65% das abelhas campeiras depois de 10 dias de sua aplicação.

A formulação de grânulos dispersíveis em água (GDA) do imidaclopride e do fipronil e/ou sua utilização via tratamento de sementes (Pinheiro & Freitas 2010), devido suas excelentes propriedades sistêmicas, conferem certa segurança para as abelhas.

O clothianidin é um inseticida semelhante ao imidaclopride lançado pelo mesmo fabricante em 2003. O início da sua comercialização coincidiu com grande mortandade de abelhas e levantou muitas suspeitas sobre esse produto e os demais nicotinóides. Atualmente há indícios de que neonicotinóides como clothianidin, imidaclopride, fipronil e thiamethoxam possam, em associação a vários outros fatores, estarem envolvidos com a Desordem do Colapso das Colônias (DCC) que vem afetando as colônias de *A. mellifera* nos Estados Unidos e outros países ao redor do mundo. Diferente dos piretróides também suspeitos, isso levou vários países a banirem todos ou alguns desses nicotinóides (Vollmer 2008).

#### INSETICIDAS DE BAIXA TOXICIDADE AGUDA ORAL E/OU DÉRMICA – AZADIRACHTIN E REGULADORES DO CRESCIMENTO

Os inseticidas que apresentam baixa toxicidade, por via oral e/ou dérmica, embora não produzam efeitos visuais significativos de mortalidade nas colônias de abelhas melíferas no campo, podem ter seus efeitos sub-letais potencializados, dependendo do tipo de formulação, doses aplicadas e período em que são aplicados (Johansen & Mayer 1990). Jaycox *et al.* (1974) constataram que produtos mimetizadores da ação de hormônios juvenis suprimiram o desenvolvimento das glândulas hipofaríngeas em *A. mellifera*. Isto é um aspecto muito importante, visto que as glândulas hipofaríngeas das abelhas jovens, até os 9-10 dias de idade, são responsáveis pela secreção de substâncias componentes da geléia real, alimento que fornece o precursor do feromônio produzido pela abelha-rainha. Assim, qualquer falha na produção de geléia real pode resultar em falha na produção de feromônio pela rainha, levando as abelhas a substituir rainhas de modo sucessivo, o que pode alterar a divisão de trabalho dentro da colméia

(Johansen & Mayer 1999). Doses sub-letais de diflubenzuron, penfluron (50µg/abelha) e metoprene (250µg/abelha) causaram efeito similar, sendo que o metoprene ainda estimulou o forrageamento precoce (Robinson 1985, Gupta & Chandel 1995), embora a preferência por fontes de pólen e néctar e o desempenho da atividade de forrageamento não tenha sido afetada (Robinson 1985, Deng & Waddington 1997).

Barker & Taber (1977) avaliaram o efeito de diflubenzuron sobre colônias de *A. mellifera*, sob condições de semi-campo, ministrando doses sub-letais, via dieta, e constataram que o nível de 10ppm reduziu a captação de pólen e água, diminuiu a produção de favo, ovos e operárias e suprimiu a produção de crias. De Wael *et al.* (1995) observaram que o teflubenzuron, no nível de 150ppm, causou danos consideráveis a colônias de *Bombus*, tais como redução na captura de sacarose, diminuição no desenvolvimento de ovos e mortalidade larval. Estes efeitos são particularmente importantes para abelhas melíferas, haja vista que Haynes (1988) alega que a redução no número de crias e novas abelhas é mais danoso que a perda de abelhas forrageadoras. Diflubenzuron e teflubenzuron são registrados no Brasil sob as formulações pó molhável (PM) e suspensão concentrada (SC), o que aumenta a possibilidade de efeitos sub-letais sobre as abelhas (Johansen & Mayer 1990, Pinheiro & Freitas 2010).

O consumo de azadirachtin, um terpenóide extraído da árvore *Azadirachta indica* (neen indiano), vem crescendo no Brasil, principalmente devido a este aspecto, ser de origem natural, e pela crença prevalecente entre os agricultores que tais produtos oferecem uma grande margem de segurança para aplicações no campo. Neumann *et al.* (1994) detectaram efeito repelente do azadirachtin em *A. mellifera*, sob condições de semi-campo, via dieta, porém para aplicações de campo sobre colza em florescimento este efeito desapareceu. Muitos experimentos conduzidos sob condições de semi-campo mostraram que, aparentemente, não há danos para as abelhas forrageadoras ou para a colônia, particularmente no que diz respeito a performance da atividade de forrageamento. Contudo, poucos dias após a aplicação (em torno de 10 dias), alguns níveis de doses resultaram em reduzida emergência de adultos, mortalidade larval e malformações nas asas

de abelhas recém emergidas (Rembold *et al.* 1980, Mordue & Blackwell 1993, Naumann & Isman 1996 citados por Schenk *et al.* 2001). Melathoupolos *et al.* (2000a) detectaram que aplicações de azadirachtin no campo, a intervalos de seis dias, reduziu severamente a área de cria e causou grande mortalidade de rainhas nas colônias. Sob condições de laboratório, entretanto, não se verificou grande mortalidade de abelhas (Melathoupolos *et al.* 2000b), o que evidencia que a ação do produto dá-se mais pela ação sistêmica no pólen e néctar contaminados, quando são transferidos para a colméia. Azadirachtin ainda não é registrado no Brasil para uso agrícola.

### FUNGICIDAS E HERBICIDAS

Fungicidas e herbicidas possuem mecanismos de ação muito específicos, voltados para o controle de

fungos e plantas, razão pela qual não oferecem grande risco para as abelhas (Tabela 1). Eventualmente, efeitos tóxicos letais e sub-letais podem ocorrer em função de determinada característica do ingrediente ativo e/ou produto técnico (ingrediente ativo mais impurezas), tal como capacidade para causar irritação, ou de um componente presente na formulação, tal como o xileno, um solvente aromático altamente irritante e que compromete a memória de curto prazo, usado nas formulações denominadas concentrado emulsionável (CE) de muitos fungicidas (ATSDR 1993). Captan, um fungicida de amplo uso em macieira, particularmente no Brasil (Tabela 1), pode provocar efeitos de repelência, diminuindo a capacidade de forrageamento, defeitos morfogênicos em adultos expostos na fase de larva (pernas, asas e corpo) e aumento na mortalidade de larvas (Solomon & Hooker 1989, Johansen & Mayer

**TABELA 1.** Efeito tóxico residual sobre abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.) de fungicidas e herbicidas de amplo uso mundial e seus registros para culturas no Brasil. FONTE: Adaptado de Johansen & Mayer (1990) e Riedl *et al.* (2006).

**TABLE 1.** Residual toxic effect on honey bees (*Apis mellifera* L.) of fungicides and herbicides worldwide used and their records for agriculture in Brazil. SOURCE: Adapted from Johansen & Mayer (1990) and Riedl *et al.* (2006).

INGREDIENTE ATIVO	FORMULAÇÃO	RT <sub>25</sub> , RT <sub>40</sub>	CULTURAS	RECOMENDAÇÕES
<b>Herbicidas</b>		< 4 - > 8 h		
MSMA	S		Cana, algodão.	Não aplicar no pleno florescimento da cultura ou ervas.
		< 2 h		
2,4 D amina	S		Arroz, café, milho, cana, pastagem, soja, trigo.	
2,4 D			Milho, café, cana, soja, trigo, arroz,	
Sal dimetilamine	S		aveia, centeio, pastagem, cevada, açudes, represas, canais, áreas não agrícolas.	Aplicar em adiantado Crepúsculo, noite ou cedo da manhã, no
Fluazifop p-butil	CE		Soja, café, algodão, laranja, tomate,	pleno florescimento
	SC		fumo, feijão, batata, alface, cebola, cenoura, roseira, crisântemo, cana.	das culturas ou ervas.

Continuação da Tabela 1. Continuation of Table I.

Simazine (mistura c/ atrazine)	SC	Milho, cana, abacaxi, coníferas, sisal, seringueira.	
NA			
2,4 D éster butílico*		Arroz, trigo, soja, aveia, milho.	
Atrazine	SC, GDA	Milho, cana, sorgo.	
Diquat	S	Café, citros, soja, batata, arroz, feijão, cebola, beterraba, pêssego, abacaxi, couve, maçã, manga, nectarina, pêra, pimenta-do-reino, alfafa.	Aplicar a qualquer tempo, com razoável
Oxyfluorfen	CE	Café, citros, cana, cebola, pinos, soja, eucalipto, algodão, florestas, arroz, áreas não agrícolas.	segurança.
Diuron	SC	Cana, algodão, abacaxi, alfafa, banana, Café, citros, uva, cacau, seringueira, áreas não cultivadas.	
Alachlor	CE	Soja, milho, algodão, amendoim, café, cana, girassol.	
Paraquat	S	Soja, café, banana, abacate, citros, coco, maçã, pêra, pêssego, uva, aspargo, Couve, pastagem, feijão, arroz, milho, sorgo, batata, beterraba, algodão, cacau, chá, cana, oliva, seringueira, trigo.	
Glyphosate	S, SC	Soja, milho, café, pastagem, trigo, arroz, cana, citros, maçã, seringueira, uva,	Aplicar a qualquer tempo, com razoável
	GDA, CE	pêra, ameixa, pêssego, nectarina, cacau,	segurança.

Continuação da Tabela 1. Continuation of Table I.

		banana, pinos, eucalipto, algodão, florestas, áreas não agrícolas (incluindo áreas urbanas, rodovias, ferrovias).	
Metribuzin	SC	Soja, tomate, batata, trigo, aspargo, café, cana, mandioca.	
Picloram (mistura com 2,4 D)	S	Pastagem.	
Trifluralin	CE	Soja, algodão, arroz, amendoim, cana, Citros, feijão, milho, hortaliças, alho, amendoim, feijão-vagem, girassol, berinjela, cenoura, quiabo, couve-flor, Cebola, pimentão, repolho, tomate, gladiolo, roseira.	
<b>Fungicidas</b>		NA	
Thiram	SC (Trat. de sementes)	Soja, milho, algodão, arroz, trigo, feijão, aveia, cevada, ervilha.	
Triadimenol	CE	Trigo, café, banana, abóbora, alho, cana, cevada.	Aplicar a qualquer tempo, com razoável
	SC (Trat. de sementes)	Trigo, algodão, aveia, cevada.	segurança.
Captan	P (Trat. de sementes)	Soja, milho, trigo, algodão, amendoim, café, feijão, alfafa.	
		Tomate, batata, alho, cebola, melão, melancia, pepino, abóbora, uva, maçã,	

Continuação da Tabela 1. Continuation of Table I.

	PM (aplicações foliares)	Pêra, pêssego, citros, roseira, cravo, gladiolo, abacaxi, alface, morango, trigo, uva.	
	PM (Trat. de sementes)	Algodão, milho, trigo.	
Dodine	SC	Maçã, morango, pêra, pêssego, roseira.	Aplicar a qualquer
Mancozeb		Ameixa, abóbora, abacate, batata, cacau, tomate, pepino, cebola, alho, fumo, trigo, arroz, feijão, café, citros, figo, maçã, manga, pêssego, uva, cravo, berinjela, cenoura, couve- flor, brócoli, beterraba, melancia, melão, amendoim, couve, repolho, pimentão, ervilha, feijão-vagem, roseira, gladiolo, crisântemo.	tempo, com razoável segurança.
	SC	Tomate, batata, trigo, arroz, feijão, citros, maçã, uva, roseira.	
Vinclozolin	PM	Feijão.	
Iprodione	SC	Tomate, trigo, uva, batata, café, alface, cebola, cenoura, morango, pêssego, crisântemo, pimentão, cevada, feijão.	
Carboxin (mistura c/ thiram)	SC (Trat. de sementes)	Soja, algodão, arroz, milho, trigo, feijão, aveia, cevada, ervilha.	

\* Há evidência de campo de toxicidade crônica de longo prazo para abelhas para o produto e seus derivados, principalmente em climas frios e quando plantas nectaríferas são atingidas pelas aplicações.

Pó molhável (PM), suspensão concentrada (SC), concentrado emulsionável (CE), pó solúvel (PS), Solução (S), Granulada (G), microencapsulada (ME), pó seco (P), Não aplicável (NA).

1990). Isto é particularmente importante, haja vista que a formulação mais comumente usada no Brasil para aplicações foliares em um grande número de culturas que dependem dos serviços de polinização das abelhas é pó molhável (PM) (Tabela 1), o que oferece grande risco para as abelhas (Pinheiro & Freitas 2010). Iprodione é outro fungicida que tem causado alguma mortalidade larval ou a produção de pupas excepcionalmente grandes que não completam o desenvolvimento em adulto (Riedl *et al.* 2006).

No que se refere aos herbicidas, embora tenham sido observadas algumas intoxicações de abelhas em testes de laboratório, é pouco provável que causem problemas às abelhas no campo já que seu modo de ação afeta vegetais, não animais (Riedl *et al.* 2006). O principal impacto sobre as abelhas é mesmo a supressão da disponibilidade de néctar e pólen (Johansen & Mayer 1990), entretanto o efeito sobre as abelhas nativas vai além disso, por eliminar, em extensas áreas com monocultivo, a diversidade de espécies de plantas que servem como fonte de néctar e pólen, com florescimento em épocas distintas, usadas também para descanso, nidificação e reprodução (Freitas 1991, 1994). Efeitos diretos podem também ocorrer, tal como redução na produção de crias e mortalidade de abelhas expostas a baixos níveis de 2,4 D (Kidd & James 1994, USNLM 1995, Johansen & Mayer 1990), um dessecante bastante utilizado no Brasil nas extensas áreas de soja, milho e pastagens (Brasil 2009).

## CONCLUSÕES

Além do efeito letal facilmente perceptível, a mortalidade, os pesticidas, primariamente os inseticidas, causam mudanças não facilmente observáveis, que culminam com a ruptura da divisão de trabalho e a exclusão social das abelhas contaminadas (efeitos sub-letais), podendo traduzir-se em severos danos para a colônia, devido à redução do seu vigor e produtividade. No curto prazo, muitos desses efeitos ocorrem em níveis abaixo daqueles estimados como prováveis de ocorrer, após as aplicações. A maioria desses efeitos é de difícil identificação e marcadores a nível celular como as “proteínas de defesa” (*heat shock proteins* – HSPs) produzidas nos túbulos de Malpighi, glândulas salivares e estômagos das abelhas poderiam ser usados para comparações

entre áreas com e sem aplicações de defensivos para determinar alterações sub-letais sofridas por abelhas, conforme sugerido por Malaspina & Silva-Zacarin (2006). Especial atenção deve ser dada para efeitos sub-letais, em laboratório, para pesticidas que podem aparentemente não oferecer riscos sob condições de estudos posteriores (testes em semi-campo e campo), devido a sua baixa toxicidade aguda oral e de contato ou baixas taxas de aplicação, mas que podem resultar em efeitos significativos sobre a colônia, tal como a rejeição de abelhas operárias que retornam à mesma. Para os estudos de campo e semi-campo, sugere-se que sejam incluídas observações tais como níveis de orientação das abelhas operárias, limpeza excessiva do corpo, tremores, comportamento agressivo, níveis de atividade à entrada da colmeia, efeitos retardados e observação do número de indivíduos no início e término do experimento, dentre outros, que podem ter grande impacto no desenvolvimento e sobrevivência da colônia. Efeitos sub-letais no longo prazo, tais como sobrevivência ao longo do inverno ou de extensos períodos de seca, deverão ser também estudados. Para um estudo mais realístico do impacto dos pesticidas sobre os polinizadores, em especial as abelhas, um amplo banco de dados deve ser gerado, na perspectiva de se fornecer subsídios para a análise, interpretação e correlação dos resultados obtidos sob condições de testes de laboratório e de semi-campo e campo às condições dos vários agroecossistemas brasileiros, para a definição de estratégias de manejo visando a otimização do benefício simultâneo dos pesticidas e polinizadores para as culturas.

**AGRADECIMENTOS:** Os autores agradecem as sugestões dos revisores anônimos. Esse estudo contou com o apoio de uma bolsa de Produtividade em Pesquisa do CNPq (305062/2007-7) para o primeiro autor e do projeto CNPq (484587/2007-2).

## REFERÊNCIAS

- ATKINS, E. L. & KELLUM, D. 1986. Comparative morphogenic and toxicity studies on the effect of pesticides on honeybee brood. *Journal of Apicultural Research*, 25: 242-255.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1993. *Toxicological profile for xilenes*. Department. of Health and Human Services, Atlanta, Georgia. 106p.

- BARKER, R. J. & TABER, S. 1977. Effects of diflubenzuron fed to caged honey bees. *Environmental Entomology*, 6: 167-168.
- BELZUNCES, L. P.; VANDAME, R. & XINGFA GU. 2001. Joint effects of pyrethroid insecticides and azole fungicides on honeybee thermoregulation. Pp. 297-298. *In: L.P. Belzunces, C. Pelissier. & G. B. Lewis (eds.). Hazards of pesticides to bees. INRA, France. 361p.*
- BENDAHO, N.; FLECHE, C. & BOUNIAS, M. 1999. Biological and biochemical effects of chronic exposure to very low levels of dietary cypermethrin (Cymbush) on honeybee colonies (Hymenoptera:Apidae). *Ecotoxicological and Environmental Safety*, 44: 147-153.
- BORTOLOTTI, L.; MONTANARI, R.; MARCELINO, J.; MEDRZYCHI, P.; MAINI, S. & PORRINI, C. 2003. Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of the honey bees. *Bulletin of Insectology*, 56: 63-67.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Agróxicos. Brasília, DF. <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. (Acesso em 20/01/2009).
- BROMENSHENK, JJ.; GUDATIS, J.L.; CARLSON, S.R.; THOMAS, J.M. & SIMMONS, M.A. 1991. Population-dynamics of honey-bee nucleus colonies exposed to industrial pollutants. *Apidologie*, 22: 359-369.
- COLLIN, M.E.; BONMATIN, J. M.; MOINEAU, J.; GAIMON, C.; BRUN, S. & VERMANDERE, J.P. 2004. A method to quantify and analyze the activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43: 387-395.
- COX, R.L. & WILSON, W.T. 1984. Effects of permethrin on the behavior of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera:Apidae). *Environmental Entomology*, 13: 375-378.
- DAVIS, A.R.; SOLOMON, K.R. & SHUEL, R.W. 1988. Laboratory studies of honeybee larval growth and development as affected by systemic insecticides at adult sublethal levels. *Journal of Apicultural Research*, 27: 146-161.
- DE WAEL, L.; DE GREEF, M. & VAN LAERE, O. 1995. Toxicity of pyriproxifen and fenoxycarb to bumble bee brood using a new method for testing insect growth regulators. *Journal of Apicultural Research*, 34: 3-8.
- DECOURTYE, A.; LE METAYER, M.; POTTIAU, H.; TISSUER, M.; ODOUX, J.F. & PHAM-DELEGUE, M.H. 1999. Impairment of olfactory learning performances in the honeybee after long term ingestion of imidacloprid. Pp. 113-117. *In: L.P. Belzunces, C. Pelissier. & G.B. Lewis (eds.). Hazards of pesticides to bees. INRA, France. 361p.*
- DENG, G. & WADDINGTON, K.D. 1997. Methoprene does not affect food preferences and foraging performance in honey bee workers. *Journal of Insect Behavior*, 10: 229-235.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organisation). 1992. Guideline on test methods for evaluating the side-effects of plant protection products on honeybees. *European and Mediterranean Plant Protection Organisation Bulletin*, 22: 203-216.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organisation). 1993. Decision making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. Chapter 10 – Honeybees. *European and Mediterranean Plant Protection Organisation Bulletin*, 23: 151-165.
- EPA (United States Environment Protection Agency). 1996. *Honey bee acute contact toxicity*. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.3020. United States Environment Protection Agency (USEPA). 6p.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2004. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture – the international response. Pp. 19-25. *In: B.M. Freitas & J.O.B. Portela (eds.). Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 285p.*
- FREITAS, B.M. 1991. Potencial da caatinga para a produção de pólen e néctar para a exploração apícola. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE, Brasil, 140p.
- FREITAS, B.M. 1994. Beekeeping and cashew in north-eastern Brazil: the balance of honey and nut production. *Bee World*, 75: 160-168.
- FREITAS, B.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; MEDINA, L.M.; KLEINERT, A.M. P.; GALLETTO, L.; NATES-PARRA, G. & QUEZADA-EUÁN, J.J.G. 2009. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. *Apidologie*, 40: 332-346, doi: 10.1051/apido/2009012.

- GUPTA, P.R. & CHANDEL, R.S. 1995. Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana indica* F and *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 26: 3-10.
- HAYNES, K.F. 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Reviews of Entomology*, 33: 149-168.
- JAYCOX, E.R.; SKOWRONEK, W. & GUYNN, G. 1974. Behavioral changes in worker honey bees (*Apis mellifera*) induced by injections of juvenile hormone mimic. *Annual Entomology Society of America*, 67: 529-534.
- JOHANSEN, C.A. & MAYER, D.F. 1990 *Pollinator protection*. A bee & pesticide handbook. Wicwas Press, Cheshire, USA. 212p.
- KEVAN, P. 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species activity and diversity. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 74: 373-393.
- KIDD, H. & JAMES, D.R. 1994. *The Agrochemicals Handbook*. Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Systems, Surrey, England. 313p.
- KLEIN, A.M.; VAISSIÈRE, B.; CANE, J.H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C. & TSCHARNTKE, T. 2007. Importance of crop pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London, Serie B*, 274: 303-313.
- MACKENZIE, K. E. & WINSTON, M. L. 1989. Effects of sublethal exposure to diazinon on longevity and temporal division of labor in the honey bee ( Hymenoptera: Apidae ). *Journal of Economic Entomology*, 82: 75-82.
- MALASPINA, O. & SILVA-ZACARIN, E.C.M. 2006. Cell markers for ecotoxicological studies in target organs of bees. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, 23: 303-309.
- MALASPINA, O. & SOUZA, T. F. 2008. Reflexos das aplicações de agrotóxicos nos campos de cultivo para a apicultura brasileira. *In: Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Apicultura e III de Meliponicultura*. Belo Horizonte, MG, Brasil. CD-Rom.
- MALASPINA, O.; SOUZA, T.F.; ZACARIN, E. C.M.S.; CRUZ, A.S. & JESUS, D. 2008. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. Pp. 41-48. *In: Anais do VIII Encontro sobre Abelhas*. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 763p.
- MAMOOD, A.N. & WALLER, G.D. 1990. Recovery of learning responses by honeybees following sublethal exposure to permethrin. *Physiological Entomology*, 15: 55-60.
- MAYER, D.F. & LUNDEN, J.D. 1999. Field and laboratory tests of the effects of fipronil on adult female bees of *Apis mellifera*, *Megachile rotundata* and *Nomia melanderi*. *Journal of Apicultural Research*, 38: 191-197.
- MAUS, C.; CURÉ, G. & SCHMUCK, R. 2003. Safety of imidacloprid seed dressings to honey bees: a comprehensive overview and compilation of the current state of knowledge. *Bulletin of Insectology*, 56: 51-57.
- MELATHOPOULOS, A.P.; WINSTON, M.L.; WHITTINGTON, R.; HIGO, H. & LeDOUX, M. 2000a. Field evaluation of neem and canola oil for the selective control of the honey bee mite parasites *Varroa jacobsoni* and *Acarapsis woodi*. *Journal of Economic Entomology*, 93: 559-567.
- MELATHOPOULOS, A.P.; WINSTON, M.L.; WHITTINGTON, R.; SMITH, T.; LINDBERG, C.; MUKAY, A. & MOORE, M. 2000b. Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees, their parasites *Varroa jacobsoni* and *Acarapsis woodi*, and brood pathogens *paenibacillus larvae* and *Ascophera apis*. *Journal of Economic Entomology*, 93: 199-209.
- NAUMANN, K.; CURRIE, R. W. & ISMAN, M.B. 1994. Evaluation of the repellent effects of a neem insecticide on foraging honey bees and other pollinators. *Canadian Entomology*, 126: 225-230.
- NATION, J.L.; ROBINSON, F.A.; YU, S.J. & BOLTEN, A.B. 1986. Influence of upon honeybees of chronic exposure to very low levels of selected insecticides in their diet. *Journal of Apicultural Research*, 25: 170-177.
- NIGG, H.N.; RUSS, R.V.; MAHON, W.D.; STAMPER, J.H. & KNAPP, J.L. 1991. Contamination of sucrose solution with aldicarb sulfoxide inhibits foraging by honeybees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 84: 810-813.
- NRCC (National Research Council of Canada). 1981. *Pesticide-pollinator interactions*. Publication No. 18471. National Research Council of Canada, Ottawa, Canada. 190p.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development). 1998a. *Guidelines for testing of chemicals*

- Number 213 Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. Environmental Health Safety Division, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France. 43p.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development). 1998b. Guidelines for testing of chemicals Number 214 Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. Environmental Health Safety Division, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France. 54p.
- PINHEIRO, J.N. & FREITAS, B.M. 2010. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. *Oecologia Australis*, 14: 266-281, doi:10.4257/oeco.2010.1401.16
- PINTO, M.R. & MIGUEL, W. 2008. Intoxicação de *Apis mellifera* por organofosforado na região do Vale do Itajaí – SC. In: Anais do Conbravet 2008. <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1080-2.pdf>>. (Acesso em 26/01/2009).
- 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. 2008. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters*, 11: 499-515.
- RIEDL, H; JOHANSEN, E.; BREWER, L. & BARBOUR, J. 2006. *How to reduce bee poisoning from pesticides*. Pacific Northwest Extension 591, Oregon State University, Corvallis, United States. 26p.
- RIETH, J.P. & LEVIN, M.D. 1988. The repellent effect of two pyrethroid insecticides on the honey bee. *Physiological Entomology*, 13: 213-218.
- RIETH, J.P. & LEVIN, M.D. 1989. Repellency of two phenyl-acetate-ester pyrethroids to the honeybee. *Journal of Apicultural Research*, 28: 175-179.
- ROBINSON, G.E. 1985. Effects of a juvenile hormone analogue on honey bee foraging behaviour and alarm pheromone production. *Journal of Insect Physiology*, 31: 277-282.
- SCHENK, P.; IMDORF, A. & FLURI, P. 2001. *Effects of neem oil on varroa mites and bees*. Bee Research Centre, Bern, Switzerland. 4p.
- SCHMUCK, R. 1999. No causal relationship between Gaucho seed dressing in sunflowers and the French bee syndrome. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 52: 257-299.
- SCHMUCK, R.; SCHOUNING, R.; STORK, A. & SCHRAMET, O. 2001. Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L., Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. *Pest Management Science*, 57: 225-238.
- SCHRICKER, B. & STEPHEN, W.P. 1970. The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behaviour. I. Oral administration and the communication dance. *Journal of Apicultural Research*, 9: 141-153.
- SHIRES, S.W.; LE BLANC, J.; MURRAY, A.; FORBES, S. & DEBRAY, P. 1984. A field trial to assess the effects of a new pyrethroid insecticide, WL 85871, on foraging honeybee in oilseed rape. *Journal of Apicultural Research*, 23: 217-226.
- SMIRLE, M.J. 1993. The influence of colony population and brood rearing intensity on the activity of detoxifying enzymes in worker honey bees. *Physiological Entomology*, 18: 420-424.
- SOLOMON, M.G. & HOOKER, K.J.M. 1989. Chemical repellents for reducing pesticide hazard to honeybees in apple orchards. *Journal of Apicultural Research*, 28: 223-227.
- STOCKSTAD, E. 2007a. The case of the empty hives. *Science*, 316: 970-972.
- STOCKSTAD, E. 2007b. Puzzling decline of U.S. bees linked to virus from Australia. *Science*, 317: 1304-1305.
- STONER, A.; WILSON, W.T. & RHODES, H.A. 1982. Carbofuran: effect of long-term feeding of low doses in sucrose syrup on honeybees in standard-size field colonies. *Environmental Entomology*, 11: 53-59.
- STONER, A.; WILSON, W.T. & HARVEY, J. 1983. Dimethoate (Cygon): effect of long-term feeding of low doses on honey bees in standard size field colonies. *The Southwestern Entomology*, 8: 174-177.
- STONER, A.; WILSON, W.T. & HARVEY, J. 1985. Acephate (Orthene): effects on honey bee queen, brood and worker survival. *American Bee Journal*, 125: 448-450.
- SUCHAIL, S.; GUEZ, D. & BELZUNCES, L.P. 2000. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 1901-1905.
- TASEI, J.N.; LERIN, J. & RIPAUT, G. 2000. Sub-lethal effects of imidacloprid on bumblebees, *Bombus terrestris*

(Hymenoptera:Apidae) during a laboratory feeding test. *Pest Management Science*, 56: 784-788.

TAYLOR, K.S.; WALLER, G.D. & CROWDER, L.A. 1987. Impairment of a classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. *Apidologie*, 18: 243-252.

THOMPSON, H.M. 2003. Behavioural effects of pesticides in bees – their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology*, 12: 317-330.

USNLM (United States National Library of Medicine). 1995. *Hazardous substances databank*. United States National Library of Medicine, Bethesda, MD. 448p.

VANDAME, R.; MELED, M.; COLIN, M.E. & BELZUNCES, L.P. 1995. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environmental Toxicology Chemistry*, 14: 855-860.

VOLLMER, S. 2008. Italy bans pesticides linked to bee devastation. In: BeesAndGarden.com. <<http://beeandgarden.com/?p=68>>. (Acesso em 28/01/2009).

WALLER, G.D.; BARKER, R.J. & MARTIN, J.H. 1979. Effects of dimethoate on honeybee foraging. *Chemosphere*, 7: 461-463.

WINFREE, R.; WILLIAMS, N.M.; DUSHOFF, J. & KREMEN, C. 2007. Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. *Ecology Letters*, 10: 1105-1113.

Submetido em 29/01/2009

Aceito em 28/05/2009