

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

JOYCE OLIVEIRA COSTA

**Avaliação dos efeitos da toxicidade em *Melipona scutellaris* (Latreille,
1811) pelo uso oral da abamectina e imidacloprido**

São Carlos

2019

JOYCE OLIVEIRA COSTA

Avaliação dos efeitos da toxicidade em *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811) pelo uso oral da abamectina e imidacloprido

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Ambiental.

Orientadora: Dr^a Janete Brigante

São Carlos

2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

Oa Oliveira Costa, Joyce
Avaliação dos efeitos da toxicidade em *Melipona
scutellaris* (Latreille, 1811) pelo uso oral da
abamectina e imidacloprido / Joyce Oliveira Costa;
orientador Janete Brigante. São Carlos, 2019.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2019.

1. Abelhas nativas. 2. Efeitos da toxicidade. 3.
Dose letal. 4. Quociente de risco. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Joyce Oliveira Costa**

Data da Defesa: 23/10/2019

Comissão Julgadora:

Resultado:

Janete Brigante (Orientador(a))

Aprovada

Eny Maria Vieira

aprovada

Dayana Moscardi dos Santos

Aprovada



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

*Dedico este trabalho a meus amados pais,
Helio e Elisabeth por me apoiarem ao longo da vida
e a minha querida irmã, Francine,
por acreditar sempre em mim, em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, e agora, amiga, Dr^a Janete Brigante, por ter me apresentado ao mundo das abelhas e me mostrar direções totalmente inesperadas dentro da área ambiental, mantendo o brilho da carreira que escolhi e decidir amar.

À Prof^a Eny Maria Vieira, por acreditar no meu trabalho e mostrar os diversos caminhos que poderia seguir para seguir meus sonhos.

À Universidade de São Paulo, especialmente ao CAASO, por fornecer opções na vida universitária que permitiram ter um olhar muito mais amplo e crítico, mostrando como poderia contribuir para a sociedade de forma ética e profissional.

Ao meu sobrinho Pablo, que mostrou todo apoio de forma única ao longo desses anos e ao Miguel, meu sobrinho, que sempre conseguia me provar que toda hora era hora de se divertir.

Às minhas amigas de longa data que mostraram toda compreensão, apoio nesse momento da minha vida, além de me acompanharem por todos os anos da graduação – Bianca Parracho, Carla Rompa, Liane Garces e Thalita Verniz – e pelos anos que virão.

Aos meus amigos que me mostraram que a vida é muito mais que doce/salgado – Guilherme Garcia, Leo Niizu e Renan Lupion – é uma explosão de sabores e experiências.

Aos meus amigos (errados) que trouxeram o meu lado mais divertido e despreocupado da vida – Felipe Oliveira, Juliana Podestá e Vinicius Diniz – e que são parte da minha história.

À melhor sala que a USP já viu – Amb 013 – que contribuiu com parte das minhas melhores histórias na graduação.

Aos integrantes da melhor república que conheci, República Feudo, por estar presente em cada momento, em cada decisão, em cada festa ao longo desses 7 anos.

Ao Guilherme Stetelle, por ter tornado o fim da graduação inesperadamente doce e feito a vida uma caixinha de surpresas.

A todas as pessoas que passaram pela minha vida e me tornaram um indivíduo melhor por darem oportunidade de contato com diversas formas de pensamentos, vivência e de amar livremente.

RESUMO

COSTA, J. O. **Avaliação dos efeitos da toxicidade em *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811) pelo uso oral da abamectina e imidacloprido.** 2019. 83 f. Monografia (TCC) – Curso de Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Evidências mostram que nas últimas décadas, a população de *Apis* está declinando e por ser mais monitorada que as demais espécies, facilmente essas variações populacionais são notadas, podendo inferir que as abelhas nativas também estão suscetíveis a essa flutuação. Vários fatores são pontuados para explicar o declínio das abelhas, entre eles estão os agrotóxicos. E entre todas as espécies de abelhas nativas existentes no Brasil, a *Melipona scutellaris* foi escolhida como objeto de estudo deste trabalho. Neste estudo, a sensibilidade da *M. scutellaris* foi avaliada sob exposição oral a dois agrotóxicos autorizados para uso no Brasil, a abamectina (produto comercial) e o imidacloprido (tanto o produto comercial quanto o padrão analítico). A concentração letal (CL_{50}) dos agrotóxicos foi determinada a partir da exposição a uma bateria de soluções com concentrações: 0,007; 0,018; 0,033; 0,074; 0,16 e 0,36 μg de abamectina/ μL ; 0,00075; 0,001; 0,0025; 0,005; 0,0075; 0,01; 0,025; 0,05 μg de imidacloprido (produto comercial)/ μL e 0,000086; 0,0002; 0,0005; 0,00125; 0,003; 0,0075 μg de ingrediente ativo/ μL (imidacloprido padrão analítico). Os resultados mostraram que a CL_{50} da abamectina variou entre 0,0041 a 0,0057 μg i.a./ μL de dieta (48h) e, 0,0019 a 0,0025 μg i.a./ μL de dieta (72h). Para o padrão analítico do imidacloprido, 0,0008 a 0,0014 μg i.a./ μL de dieta (24h), 0,0003 a 0,0005 μg i.a./ μL de dieta (48h) e 0,00019 a 0,00021 μg i.a./ μL de dieta (72h), enquanto que para o produto comercial do imidacloprido a CL_{50} foi de 0,0017 a 0,0061 μg i.a./ μL de dieta em 6h de exposição. A partir dos valores de consumo diário de sacarose pelas abelhas *M. scutellaris* e a CL_{50} , foi calculada a DL_{50} dos produtos: abamectina (0,12 e 0,053 μg i.a./abelha, respectivamente para 48 e 72h), imidacloprido (padrão analítico) 0,021; 0,012; 0,0051 μg i.a./abelha (para 24, 48 e 72h) e imidacloprido (produto comercial) 0,025 μg i.a./abelha para 6h, concluindo que o imidacloprido comercial foi dez vezes mais tóxico que a abamectina. E a partir do cálculo do Quociente de Risco (QR) constatou-se que, com base nos valores obtidos neste estudo a abamectina apresentou baixo risco enquanto que o imidacloprido indicou a necessidade de avançar para outros níveis de avaliação de risco.

Palavras-chave: Abelhas nativas. Efeitos da toxicidade. Dose letal. Quociente de risco.

ABSTRACT

COSTA, J. O. **Avaliação dos efeitos da toxicidade em *Melipona Scutellaris* (Latreille, 1811) pelo uso oral da abamectina e imidacloprido.** 2019.83 f. Monografia (TCC) – Curso de Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Evidence shows that in the last decades the population of *Apis* is declining and for being more monitored than the other species, these population variations are easily noticed, and it can be inferred that native bees are also susceptible to this fluctuation. Several factors are punctuated to explain the decline of bees, among them are pesticides. And among all native bee species in Brazil, *Melipona scutellaris* was chosen as the object of study of this work. In this study, the sensitivity of *M. scutellaris* was evaluated by oral exposure to two pesticides authorized for use in Brazil, abamectin (commercial product) and imidacloprid (both commercial product and analytical standard). The lethal concentration (LC₅₀) of pesticides was determined from exposure to a battery of solutions with concentrations: 0.007; 0.018; 0.033; 0.074; 0.16 and 0.36 µg abamectin/µL; 0.00075; 0.001; 0.0025; 0.005; 0.0075; 0.01; 0.025 and 0.05 µg imidacloprid (commercial product)/µL and 0.000086; 0.0002; 0.0005; 0.00125; 0.003 and 0.0075 µg active ingredient / µL (imidacloprid analytical standard). The results showed that abamectin LC₅₀ ranged from 0.0041 to 0.0057 µg a. i./µL diet (48h) and 0.0019 to 0.0025 µg a. i./µL diet (72h). For the analytical standard imidacloprid, 0.0008 to 0.0014 µg a. i/ µL diet (24h), 0.0003 to 0.0005 µg ai/µL diet (48h) and 0.00019 to 0.00021 µg a.i/µL diet (72h), whereas for the imidacloprid commercial product the LC₅₀ was from 0.0017 to 0.0061 µg a. i/µL diet at 6h exposure. From the daily sucrose consumption values by *M. scutellaris* bees and the LC₅₀, the lethal dose (LD₅₀) of the products were calculated: abamectin (0.12 and 0.053 µg a. i/bee, respectively for 48 and 72h), imidacloprid (analytical standard) 0.021; 0.012; 0.0051 µg a.i./bee (for 24, 48 and 72h) and imidacloprid (commercial product) 0.025 µg a.i./bee for 6h, concluding that commercial imidacloprid was ten times more toxic than abamectin. And from the calculation of the Hazard Quotient (HQ) it was found that, based on the values obtained in this study, abamectin presented low risk while imidacloprid indicated the need to advance to other levels of risk assessment.

Keywords: Native bees. Toxicity effects. Lethal dose. Hazard Quotient.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais espécies produtoras de mel criadas nas diferentes regiões do Brasil.....	19
Figura 2. Classificação dos agrotóxicos de acordo com sua toxicidade.....	22
Figura 3. Ciclo de agrotóxicos no ambiente – ilustração geral.....	23
Figura 4. Fórmula estrutural da abamectina.....	24
Figura 5. Ação do fipronil no processo da sinapse.....	25
Figura 6. Fórmula estrutural do imidacloprido.....	26
Figura 7. Ação do neonicotinóide no impulso nervoso dos insetos.....	27
Figura 8. Esquema de três réplicas por concentração, cada qual com 10 abelhas provenientes de colônias distintas, totalizando 30 abelhas por concentração testada.....	32
Figura 9. Câmara de teste. Em destaque o alimentador do tipo tubo <i>eppendorf</i> de 1,5 mL acoplado e contendo a solução de sacarose ofertada em caráter emergencial às abelhas recém coletadas.....	32
Figura 10. Vista geral do Meliponário Experimental do CRHEA, com destaque para as colméias de <i>M. scutellaris</i>	33
Figura 11. Coleta das abelhas <i>M. scutellaris</i> na saída da colônia utilizando a câmara de teste (gaiola) e um extensor, ambos de plástico.....	34
Figura 12. Imagens da montagem do bioensaio de repelência na sequência das setas.....	36
Figura 13. Preparo das amostras para os bioensaios de toxicidade oral.....	37
Figura 14. Evolução da mortalidade de forrageiras de <i>M. scutellaris</i> à abamectina (A); imidacloprido (i.a.) (B) e imidacloprido (p.c.), e I.C. de 95%, sob diferentes tempos de exposição oral.....	44
Figura 15. Toxicidade aguda oral 24h (A) e 48h (B) e 72h (C) do inseticida Abamectina (Kraft 36EC®) para forrageiras de <i>M. scutellaris</i>	49
Figura 16. Toxicidade aguda oral 6h (A) e 24h (B) do inseticida Imidacloprido (i.a.) para forrageiras de <i>M. scutellaris</i>	50
Figura 17. Toxicidade aguda oral 6h (A) e 24h (B) do inseticida Imidacloprido (p.c.) para forrageiras de <i>M. scutellaris</i>	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de consumo de sacarose (50%) em teste de consumo com <i>M. scutellaris</i> sob condições de laboratório.....	40
Tabela 2. Consumo da solução de sacarose no teste de repelência ao Kraft 36EC®.....	41
Tabela 3. Toxicidade relativa da abamectina e imidacloprido (ambas as formulações) ingeridos pela abelha <i>M. scutellaris</i>	42
Tabela 4. Consumo de sacarose com imidacloprido (i.a.) pela <i>M. scutellaris</i> durante bioensaio de toxicidade oral.....	45
Tabela 5. Valores de consumo da abelha <i>M. scutellaris</i> para o Imidacloprido (padrão analítico).....	45
Tabela 6. Valores de consumo de sacarose consumida pela <i>M. scutellaris</i> durante o bioensaio de toxicidade oral com imidacloprido (p.c.).....	46
Tabela 7. Valores de consumo da abelha <i>M. scutellaris</i> para o Imidacloprido (produto comercial).....	46
Tabela 8. Toxicidade relativa dos agrotóxicos abamectina e imidacloprido (ambas as formulações) para a abelha <i>M. scutellaris</i>	47
Tabela 9. Valores de QR dos agrotóxicos testados para <i>M. scutellaris</i>	52

SUMÁRIO

1	<u>INTRODUÇÃO</u>	13
2	<u>OBJETIVO</u>	15
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	17
3.1	ABELHAS NATIVAS: CONTEXTUALIZAÇÃO	17
3.1.1	HISTÓRICO DAS ABELHAS	17
3.1.2	VIDA EM SOCIEDADE	17
3.2	ABELHAS NATIVAS SEM-FERRÃO (ASF)	18
3.2.1	<i>MELIPONA SCUTELLARIS</i> (LATREILLE, 1811): A ABELHA URUÇÚ-NORDESTINA	19
3.2.2	IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA E ECONÔMICA: <i>MELIPONA SCUTELLARIS</i> COMO AGENTE POLINIZADOR	20
3.3	ESTRESSOR AMBIENTAL DAS ABELHAS: OS AGROTÓXICOS	21
3.3.1	DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DOS AGROTÓXICOS	21
3.3.2	USO DE AGROTÓXICOS E CONSEQUÊNCIAS AMBIENTAIS	23
3.3.3	OS INSETICIDAS	24
3.3.4	EFEITOS DOS AGROTÓXICOS SOBRE AS ABELHAS	27
3.3.5	AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL	28
4	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	31
4.1	AGROTÓXICOS UTILIZADOS	31
4.2	DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL	32
4.3	MELIPONA SCUTELLARIS COMO ORGANISMO TESTE	31
4.4	TESTES PARA DETERMINAÇÃO DO QUOCIENTE DE RISCO DA ABAMECTINA E DO IMIDACLOPRIDO A PARTIR DA CL₅₀	34
4.5	ANÁLISES DOS DADOS	38
5	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	39
6	<u>CONCLUSÃO</u>	57

REFERÊNCIAS	59
--------------------	-----------

ANEXO	70
--------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

Os serviços ecossistêmicos, entre os quais, a polinização, sustentam a existência humana (DAILY, 1997). A polinização é o elo entre plantas e animais permitindo a manutenção da variabilidade genética dos vegetais e assim garantindo a biodiversidade entre os ecossistemas (NABHAN; BUCHMANN, 1997). Tem-se as abelhas como os principais polinizadores (BIESMEIJER; SLAA, 2004), correspondendo a 40% desse grupo e como a grande maioria é visitante floral obrigatório, dependem destes recursos ao longo do seu ciclo de vida (NOGUEIRA-COUTO, 1994).

Nas últimas décadas, notou-se o declínio da população de abelhas (ALLEN-WARDELL et al., 1998; KEVAN; VIANA, 2003; WESTERKAMP; GOTTSBERGER, 2002; CORBY-HARRIS et al., 2016), em especial as do gênero *Apis*, uma vez que é a mais criada em todo o mundo e a qual suas populações são constantemente monitoradas pelos seus criadores, o que permite detectar aumentos e declínios com mais fidelidade que as abelhas nativas. Se abelhas *Apis* estão apresentando declínio de suas populações é bastante razoável que as populações de abelhas nativas também estejam. Como as populações de abelhas nativas não têm sido monitoradas, pode estar ocorrendo perdas irreversíveis de diversidade de espécies e dos serviços ecossistêmicos por elas oferecidos.

Para explicar os declínios, vários fatores são pontuados e podem estar inter-relacionados, como: as formas de manejo durante a criação, doenças e pragas e a competição por recursos. Dentre as espécies de abelhas nativas, a introdução de espécies exóticas capazes de competir pelos recursos alimentares também é um importante estressor ambiental afetando a manutenção dessas populações. Porém, os fatores mais fortemente estudados que afetam negativamente a saúde das abelhas são a fragmentação de habitats e o uso de agrotóxicos nas culturas agrícolas (ALLEN-WARDELL et al., 1998; KEARNS; INOUE; WASER, 1998; KEVAN; VIANA, 2003).

Os agrotóxicos têm sido apontados como os maiores responsáveis pela mortalidade das abelhas que visitam as plantações tratadas. Sua suscetibilidade ao envenenamento químico está relacionada à espécie, ao tamanho corporal, ao tempo e forma de exposição, ao tipo e concentração, o que pode ocasionar ou a morte imediata ou efeitos subletais, como alteração comportamental, na capacidade de orientação, entre outros efeitos negativos (KEARNS; INOUE; WASER, 1998; MALASPINA et al., 2008). O presente estudo pretende avaliar os efeitos agudos da exposição oral de dois agrotóxicos sobre a abelha nativa

Melipona scutellaris, conhecida como Uruçú-nordestina. Esta espécie é citada na literatura como ocorrendo naturalmente na zona da mata do litoral baiano e nordestino (NOGUEIRA-NETO, 1970) e é uma das espécies mais promissoras para a criação racional, com potencial para a polinização agrícola. Possui preferência floral mais seletiva que a *Apis mellifera* (o poli híbrido encontrado no Brasil), sendo que a espécie pode polinizar culturas de interesse agrícola como abacate (*Persea americana*), pimentão (*Capsicum annuum*) e pitanga (*Eugenia uniflora*) – sendo também atraída pela florada da alfavaca-cravo, alfavacão, canafistula, cassia carnaval, cedro-rosa, cedro, cedro-vermelho, eucalipto-cinzento, eucalipto-limão, fedegoso, pau-de-cachimbo, ipê-amarelo, ipê-de-jardim, sinos-amarelos, *Leucena*, sibipiruna, uvaia-do-pêra, uvaia-do-mato, entre outras (ALEIXO et al., 2014).

Entre os diferentes agrotóxicos relacionados ao declínio populacional das abelhas, estão o imidacloprido e a abamectina. O imidacloprido é um inseticida do grupo neonicotinoides com versatilidade de aplicação (ANVISA, 2007). Além disso, se destaca pela eficiência no combate de insetos-pragas, combinando espectro de ação, sistemicidade e relativa baixa toxicidade aos mamíferos. De efeitos constatados em organismos não-alvos, no caso, as abelhas, tem-se o potencial de reduzir sua resistência a patógenos (ALAUX et al., 2010; PETTIS; VANENGELSDORP; JOHNSON, 2012), promovendo distúrbios comportamentais e redução olfatória (DECOURTYE et al., 2005; TAN et al., 2014; TEETERS et al., 2012) comprometendo a polinização.

Já a abamectina é um acaricida e inseticida do grupo químico avermectina. Seu mecanismo de ação estimula a liberação do ácido gama aminobutírico (GABA) que resulta num estado de repouso forçado, ataxia e paralisia (VARDERLEI, 2015).

Considerando os efeitos dos agrotóxicos citados em associação com seu intenso uso nas plantações se tem a necessidade de avaliar os efeitos nas abelhas, nesse caso, na *Melipona scutellaris*, dada a sua importância para a cadeia ecológica que se insere e proporcionar ações para sua preservação.

2 OBJETIVO

No presente trabalho, buscou-se avaliar os efeitos da toxicidade nas abelhas campeiras da espécie *Melipona scutellaris* a partir da aplicação oral dos inseticidas abamectina (produto comercial) e imidacloprido (produto comercial e padrão analítico).

2.1 Objetivos específicos

- Estabelecimento da CL_{50} oral dos agrotóxicos abamectina (produto comercial) e imidacloprido (padrão analítico e produto comercial) para campeiras da espécie *M. scutellaris*;
- Determinação do consumo médio diário de sacarose pela *M. scutellaris* para estimativa da DL_{50} oral para a abamectina;
- Determinação do Quociente de Risco (QR) oral da abamectina e imidacloprido para *M. scutellaris*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Abelhas Nativas: contextualização

3.1.1 Histórico das abelhas

As abelhas de um modo geral têm origem a partir de um grupo de vespas predadoras que durante o processo de evolução substituiu a proteína animal pela proteína vegetal, isto é, néctar e pólen, e especula-se que esta evolução tenha ocorrido em conjunto com a evolução das plantas com flores, chamadas angiospermas (PIRANI; CORTOPASSI-LAURINO, 1993) - provavelmente no período Cretáceo Superior (MICHENER; GRIMALDI, 1988; RAMALHO, 2004).

Para as abelhas ditas indígenas, também conhecidas como nativas ou abelhas sem ferrão, além do processo de co-evolução inseto-planta, apresentam o ferrão atrofiado (NOGUEIRA-NETO, 1997). Em relação ao aspecto comportamental, as abelhas nativas podem ser solitárias ou formar colônias (eussociais) (MICHENER, 1974). As espécies eussociais são as mais complexas por apresentarem três características bem definidas: sobreposição de gerações, divisão de trabalho e cooperação no cuidado com a prole (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996).

3.1.2 Vida em sociedade

Nas colônias de abelhas eussociais existem os seguintes tipos de indivíduos: rainha, operárias e machos. As rainhas fecundadas são responsáveis pela manutenção populacional; Os machos têm função preponderante na fertilização da rainha virgem, sendo que entre as abelhas nativas, os machos também podem exercer algumas das funções das operárias. As operárias compõem a grande maioria dos indivíduos e apresentam determinada função de acordo com idade, maturidade fisiológica e às próprias necessidades da colônia. Atuam em todas as atividades relacionadas à colônia, além de cuidados com a cria e adultos, especialmente a rainha. (FREE, 1980).

a) Divisão de trabalho

De um modo geral, a biologia das abelhas nativas eussociais envolve uma série de atividades seguindo uma sequência cronológica desde o nascimento até a morte da abelha VILLAS-BÔAS (2012). Tais atividades estão assim organizadas:

1. Nas primeiras horas após o nascimento, o foco do indivíduo adulto (operária) é a limpeza corporal e produção de cera;
2. Nos primeiros dias passa a cuidar da cria e auxiliar nas atividades de postura da rainha;
3. A partir do primeiro terço de vida, trabalha na limpeza e manipulação de alimento, paralelamente às funções citadas em (2);
4. Após o 25º dia de vida, exercem atividades no ambiente exterior. Nesta fase as operárias também são chamadas de campeiras, e, além disso, pode haver indivíduos nesta fase que, antes de assumirem a função de campeira, atuam como sentinelas, ou seja, guardam e defendem a entrada e o túnel de ingresso da colônia.

3.2 Abelhas Nativas Sem-Ferrão (ASF)

As abelhas pertencem à Classe Insecta, à Ordem Hymenoptera, Subordem Apócrita, Superfamília Apoidea e Família Apidae. Dentro da Subfamília Apinae existem 19 Tribos, dentre elas a Tribo Apini, que inclui as abelhas *Apis* e a Tribo Meliponini, que inclui todas as abelhas nativas, tanto as meliponíneos quanto as trigoniformes. Estas abelhas nativas são caracterizadas pelo ferrão atrofiado e por não construírem células específicas para a criação de abelhas rainhas. Assim, todas as castas se desenvolvem dentro de células de cria de igual tamanho, com exceção de alguns trigoniformes. Tratando-se da distribuição geográfica, ocupam grande parte das regiões de clima tropical do planeta, além de importantes regiões de clima temperado subtropical (NOGUEIRA-NETO, 1997). Há uma grande variedade de espécies nativas no Brasil, sendo muitas utilizadas na produção de mel, como mostra a Figura 1.

Figura 1. Principais espécies de abelhas eussociais e produtoras de mel e sua região atual de ocorrência no Brasil.

Região	Nome Científico	Nome(s) Popular(es)	Estados
Norte	<i>Melipona compressipes</i>	Jupará, Jandaira, Jandaira-Preta	AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO
	<i>Melipona fasciculata</i>	Tiúba, Uruçu-Cinzenta,	PA, TO
	<i>Melipona seminigra</i>	Uruçu-Boca-de-Renda, Jandaira-Amarela	AM, PA
	<i>Scaptotrigona</i> sp. ^{1,2}	Canudo ¹	AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO
Nordeste	<i>Melipona asilvai</i>	Monduri, Rajada	AL, BA, CE, PB, PE, PI, RN, SE
	<i>Melipona fasciculata</i>	Tiúba	MA, PI
	<i>Melipona mandacaia</i>	Mandaçaia	AL, BA, CE, PB, PE, PI, RN, SE
	<i>Melipona quadrfasciata</i>	Mandaçaia	AL, BA, PB, PE, SE
	<i>Melipona scutellaris</i>	Uruçu, Uruçu-Nordestina, Uruçu-Verdadeira	AL, BA, CE, PB, PE, RN, SE
	<i>Melipona subnitida</i>	Jandaira, Uruçu	AL, BA, CE, MA, PB, PE, PI, RN, SE
Centro-Oeste	<i>Melipona compressipes</i>	Uruçu, Jandaira	GO, MS, MT
	<i>Melipona rufiventris</i>	Uruçu-Amarela	GO, MS, MT
	<i>Melipona seminigra</i>	Uruçu	MT
	<i>Scaptotrigona</i> sp. ^{1,2}	Canudo ¹	GO, MS, MT
	<i>Tetragonisca angustula</i> ²	Jataí	GO, MS, MT
Sudeste	<i>Melipona bicolor</i>	Guarupú, Guaraipo	ES, MG, RJ, SP
	<i>Melipona quadrfasciata</i>	Mandaçaia	ES, MG, RJ, SP
	<i>Melipona rufiventris</i>	Uruçu-Amarela	MG, SP
	<i>Tetragonisca angustula</i> ²	Jataí	ES, MG, RJ, SP
Sul	<i>Melipona bicolor</i>	Guarupú, Guaraipo	PR, RS, SC
	<i>Melipona quadrfasciata</i>	Mandaçaia	PR, RS, SC
	<i>Melipona mondury</i>	Monduri	PR, RS, SC
	<i>Tetragonisca angustula</i> ²	Jataí	PR, RS, SC

1. Existem várias espécies do gênero *Scaptotrigona*, de diferentes regiões, chamadas "canudo" ou "tubiba".
2. Espécies da tribo Trigonini.

Fonte: Villas-Bôas (2012).

3.2.1 *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811): a abelha Uruçu-Nordestina

Conhecida popularmente como Uruçu do Nordeste, é uma abelha dócil, rústica e de fácil criação. As colônias possuem entre 300 a 600 indivíduos (LINDAUER; KERR, 1960, NOGUEIRA-NETO, 1970), mas especialistas e criadores afirmam que este número pode chegar a ser bem maior, em torno de duas mil abelhas. Sobre sua área natural de ocorrência, Schwarz (1932) cita que é a área que compreende ao estado de Pernambuco até a Bahia,

tomando como referência os estudos de Ducke no ano de 1925. Lamartine (1962) traz novas informações que expandem a ocorrência desta espécie até o Rio Grande do Norte, além de áreas interiores do estado de Alagoas (NOGUEIRA-NETO, 1970; OLIVEIRA et al. 1986).

3.2.2 Importância ecológica e econômica: *Melipona scutellaris* como agente polinizador

Para Kerr, Carvalho e Nascimento (1996), a importância ecológica da *M. scutellaris* se deve ao serviço de polinização, atuando na renovação das florestas tropicais e sua consequente conservação. O valor econômico da espécie está associado à sua expressiva capacidade de produção de mel, tornando-se uma espécie atraente para a meliponicultura. Além do mel, outros produtos destas abelhas têm valor econômico. Listam-se a seguir todos os produtos das abelhas:

1. **Mel:** resultado do néctar e outras exsudações naturais das plantas (CRANE, 1985). O néctar ao passar por uma série de alterações a partir das enzimas digestivas das abelhas, transforma-se em mel, e é armazenado em potes para alimentação (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO, 1996). É um mel menos concentrado do que o mel de *Apis* e a este mel são atribuídas propriedades medicinais (SOUZA et al., 2004). Um estudo comparativo de méis de *Apis* e de meliponíneos mostrou que cerca de 41% das amostras de mel de meliponíneos apresentavam propriedades bactericidas em comparação aos méis de *Apis mellifera acutellata* testados (CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991);
2. **Pólen ou Saburá:** Fonte de proteína e vital para o desenvolvimento completo das larvas, abelhas recém-nascidas e da rainha (KERR; CARVALHO; NASCIMENTO; 1996). Atualmente o pólen tem sido comercializado como suplemento alimentar para o homem;
3. **Resina:** Coletadas de diferentes espécies de plantas e que são utilizadas para produção da própolis, ou junto com o barro, gerando a geoprópolis. Ambos são utilizados para a vedação e defesa de seus ninhos (CARVALHO-ZILSE et al., 2007). As propriedades medicinais da própolis continuam sendo descobertas para uso do homem.
4. **Cera e cerume:** O cerume é produzido pelas operárias adultas jovens, (CAVALCANTE; OLIVEIRA; CRUZLANDIM, 2000), sendo um dos principais materiais de construção do ninho. A cera se relaciona com a divisão de tarefas e o desenvolvimento das operárias dentro da colônia. Ceras e cerume têm sido utilizados no setor de cosméticos e farmacêutico.

3.3 Estressor ambiental das abelhas: os agrotóxicos

3.3.1 Definição e classificação dos agrotóxicos

Os agrotóxicos, segundo define a Lei 7.802 de 1989 (BRASIL, 1989, p. 11459), em seu artigo 2º, são:

[...] os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos [...] substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

O critério da classificação segue diferentes linhas, entre elas:

a) Composição do ingrediente ativo

- Inorgânico: não há átomos de carbono na molécula química ativa;
- Orgânicos: presença de átomos de carbono;
 - Biológicos: derivados de insumos naturais;
 - Organossintéticos: sua origem é de síntese industrial (BULL; HATHAWAY, 1986).

b) Finalidade de uso

Assim sendo, algumas das várias classes de uso dos agrotóxicos são: inseticidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, acaricidas, rodenticidas, moluscidas, formicidas, reguladores e inibidores de crescimento (PASCHOAL, 1979).

c) Classificação toxicológica

Depende do poder letal do ingrediente ativo sobre o ser humano (ZAMBRONE, 1986). A quantidade de classes, assim como os critérios para a classificação dos agrotóxicos em cada classe são, normalmente, determinadas pela regulamentação do poder público. A figura 2 apresenta o padrão para a definição das classes toxicológicas, e seu poder letal sobre o ser humano. Quase sempre expressa em Dose Média Letal (DL_{50}), por via oral, representada por miligramas do ingrediente ativo do produto por quilograma de peso vivo, necessários para matar 50% da população de ratos ou de outro animal teste. A DL_{50} é usada para estabelecer as medidas de segurança a serem seguidas para reduzir os riscos que o produto possa apresentar à saúde humana (AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA – AGEITEC (2019).

Figura 2. Classificação dos agrotóxicos de acordo com sua toxicidade.

Classe Toxicológica	Classificação	Cor da faixa no rótulo da embalagem
I	Extremamente Tóxico: as formulações sólidas que apresentam DL 50 oral, para ratos, igual ou inferior a 5 mg/kg;	Vermelho vivo
II	Altamente Tóxico: as formulações sólidas que apresentam DL 50 oral, para ratos, superiores a 5 mg/kg e até 50 mg/kg, inclusive;	Amarelo intenso
III	Medianamente Tóxico: as formulações sólidas que apresentam DL 50 oral, para ratos, superior a 50 mg/kg e até 500 mg/kg, inclusive;	Azul intenso
IV	Pouco Tóxico: as formulações sólidas que apresentam DL 50 oral, para ratos, superior a 500 mg/kg, inclusive;	Verde intenso

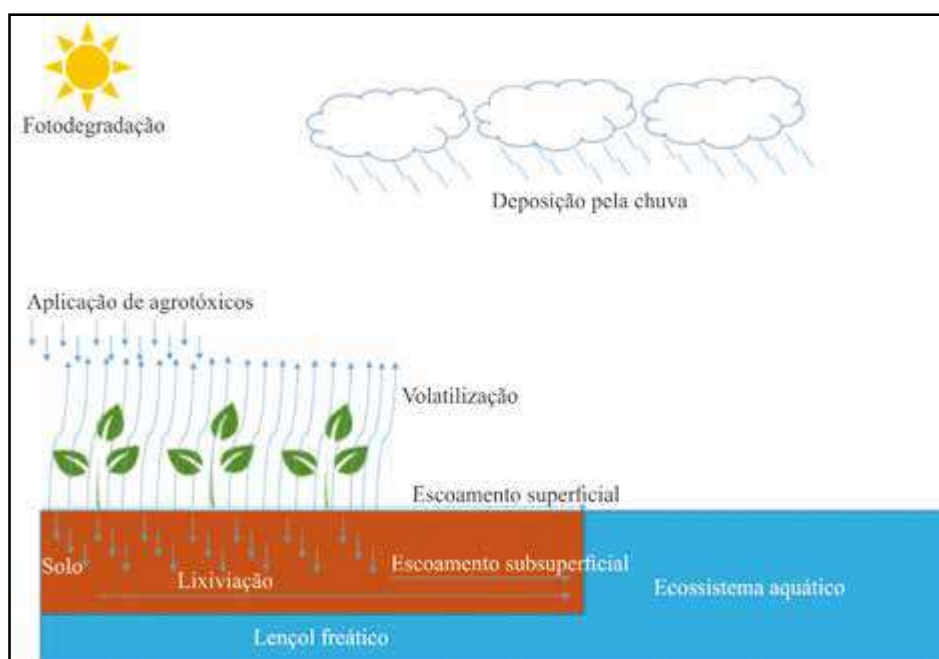
¹ Dose letal 50 aguda - DL 50 - por via oral e dérmica, para animais de laboratório, para os produtos técnicos e produtos formulados. Concentração letal 50 inalatória - CL 50 - para produtos formulados: fumigantes, vaporizáveis, voláteis e pós com partículas de diâmetro igual ou menor que 15 micrometro, nas condições de uso

Fonte: Adaptado de AGEITEC (2019).

3.3.2 Uso de agrotóxicos e consequências ambientais

Todos os agrotóxicos utilizados nas lavouras para combater certa praga, quer sejam aplicados por pulverização aérea ou por pulverização horizontal ao nível do solo, e independente de serem aplicados na dose recomendada no rótulo, certamente afetarão organismos não alvo, podendo levar a um desequilíbrio ecológico por interferir nos inimigos naturais e na relação predador-presa (HANLON; RELYEA, 2013). Depois das plantas, o solo é o principal receptor de agrotóxicos aplicados nas lavouras e o destino destas substâncias neste compartimento, dependerá, principalmente, das características físico-químicas tanto do solo quanto do pesticida (MARTINS, 2006). O ciclo dos agrotóxicos no ambiente pode ser observado na Figura 3.

Figura 3. Ciclo de agrotóxicos no ambiente – ilustração geral.



Fonte: Belchior et al. (2014).

Os agrotóxicos impactam tanto na diversidade quanto na abundância e eficiência de polinização das abelhas (PINHEIRO; FREITAS, 2010). Entram em contato com agrotóxicos voando na área da aplicação, levando à colméia, ou visitando flores contaminadas quando o resíduo tóxico é remanescente (PORRINI et al., 2003a).

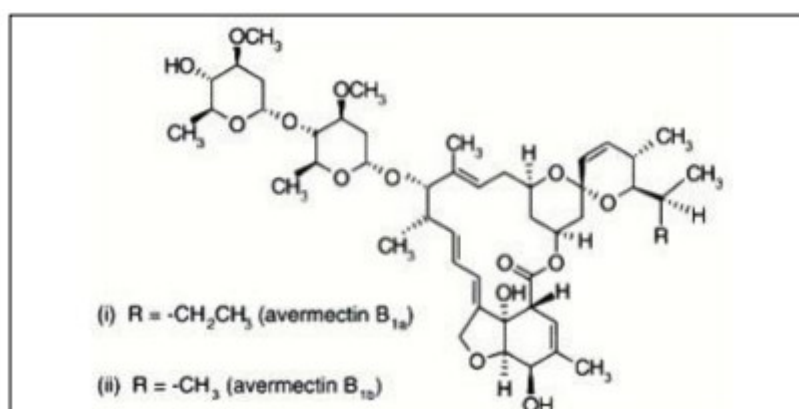
3.3.3 Os inseticidas

De acordo com BRASIL (1976), em seu artigo 3º, os inseticidas são substâncias “destinadas ao combate, à prevenção e ao controle dos insetos em habitações, recintos e lugares de uso público e suas cercanias”. Os inseticidas são classificados em vários grupos químicos, sendo que neste trabalho será dada ênfase em duas classes: as avermectinas (abamectina) e os neonicotinóides (imidacloprido).

Abamectina

O grupo químico predominante é a avermectina que pertence ao grupo antiparasitário resultado da fermentação do *Streptomyces avermitilis*. A abamectina é uma mistura de 80% de avermectina B_{1a} e 20%, da avermectina B_{1b}, apresentando propriedades biológicas e toxicológicas similares (CAMPBELL, 1989; FISHER; MROZIK, 1992; LANKAS; GORDON, 1989). As avermectinas são rapidamente fotodegradadas em água e se adsorvem nas partículas de solos, sedimentos e matéria orgânica (CAMPBELL, 1989). Utilizada para diversas culturas como algodão, amendoim, batata, café entre outras (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA- ANVISA, 2019a) com aplicação foliar. Sua fórmula bruta corresponde a: Componente B_{1a}: C₄₈H₇₂O₁₄ e Componente B_{1b}: C₄₇H₇₀O₁₄, já a estrutural é apresentada na figura 4.

Figura 4. Fórmula estrutural da abamectina.



Fonte: ANVISA (2019a).

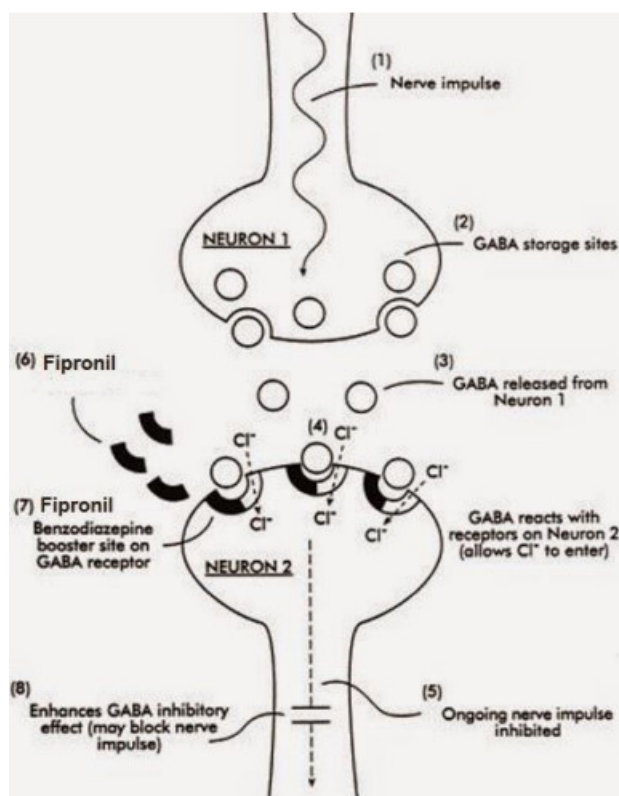
- **Mecanismo de ação nas abelhas**

A abamectina apresenta o mesmo mecanismo de atuação que o fipronil. Contrapõe a ação do neurotransmissor inibitório, GABA (ácido gama amino butírico). O processo se

desenvolve quando as substâncias presentes no agrotóxico impedem à situação posterior à transmissão de um impulso nervoso, desenvolvendo o processo de inibição que restabelece o repouso do sistema nervoso central (SNC) conforme mostrado na figura 5.

Em um quadro normal, o GABA garante o aumento na permeabilidade da membrana aos íons cloro para dentro da célula nervosa, desencadeando o mecanismo de retorno ao repouso do sistema nervoso após excitação. Esse bloqueio da ação inibitória provocado resulta em hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, levando a intoxicação do organismo, sendo os sintomas, entre outros, incluem tremores, convulsões e, eventualmente, colapso do SNC e levando a morte (MATIAS, 2019).

Figura 5. Ação do fipronil no processo da sinapse.



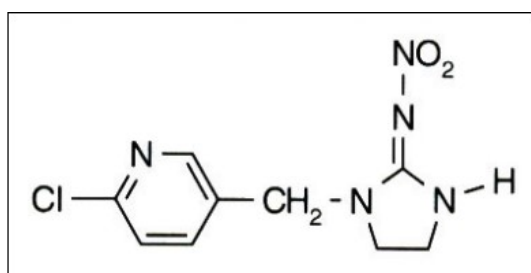
Fonte: Matias (2019).

b) Imidacloprido

O Imidacloprido pertence à classe dos neonicotinoides que foram sintetizados a partir da nitiazina (YAMAMOTO et al., 1995). Divididos em diferentes grupos que se associam estruturalmente com outro fragmento através do grupo metileno (ELBERT et al., 2008; KOVGANKO; KASHKAN, 2004), apresentam diferentes modos de ação nas enzimas específicas com relação à estrutura da molécula e atividade biológica. É uma classe de moderada solubilidade em água ou até mesmo podendo ser considerada de caráter hidrofóbica

(dependendo do arranjo molecular), as moléculas apresentam relativa fotoestabilidade. Os neonicotinoides apresentam elevado fator de seletividade para insetos em relação aos mamíferos, quando comparado a outras classes de inseticidas (TOMIZAWA; CASIDA, 2003; 2005). Assim como a abamectina, é utilizado em diversas culturas, podendo destacar as culturas de alface, algodão, alho, almeirão, amendoim, arroz, entre outras por aplicação foliar (ANVISA, 2019b). Tem como fórmula bruta, $C_9H_{10}ClN_5O_2$, sendo a fórmula estrutural apresentada na Figura 6.

Figura 6. Fórmula estrutural do imidacloprido.

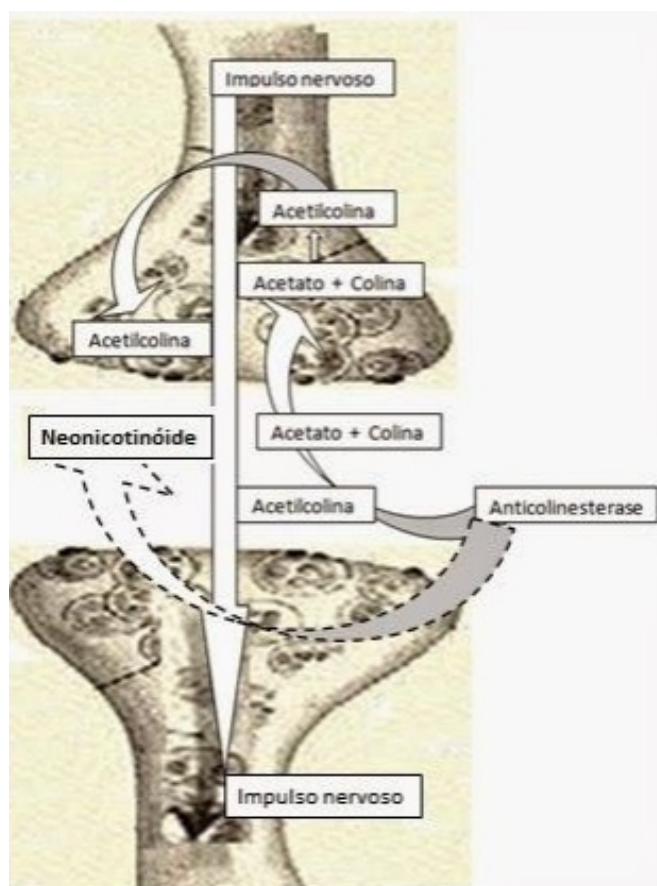


Fonte: ANVISA (2019b).

- **Mecanismo de ação nas abelhas**

Os neonicotinoides imitam o efeito da acetilcolina e competem com a mesma. É uma ligação persistente, pois são insensíveis à ação da acetilcolinesterase (AChE). Esta enzima (acetilcolinesterase) age na degradação da molécula de acetilcolina, mas não possui a mesma capacidade ao tratar dos neonicotinoides como mostra a figura 7. Logo, dada a esta característica, mantêm ativada permanentemente a acetilcolina causando hiperexcitabilidade do Sistema Nervoso Central, pois os impulsos nervosos são transmitidos contínua e descontroladamente. Os sintomas da intoxicação incluem tremores, convulsões e, eventualmente, colapso do sistema nervoso central e morte (MATIAS, 2019).

Figura 7. Ação do neonicotinoide sobre o impulso nervoso dos insetos.



Fonte: Matias (2019).

3.3.4 Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas

Sobre os polinizadores, estes são amplamente estudados devido à sua importância, não apenas na produção agrícola, mas também no papel que exercem para o equilíbrio ecológico. Os agrotóxicos, por sua vez, impactam tanto na diversidade de espécies, quanto na abundância das populações e, por conseguinte, na eficiência de polinização das abelhas (PINHEIRO; FREITAS, 2010). Os polinizadores entram em contato com os agrotóxicos quando estão forrageando a lavoura ou área pulverizada. Podem morrer horas após a exposição ao produto ou podem levar alimento ou outros materiais contaminados até a colmeia (PORRINI et al., 2003a).

Abelhas *Apis* podem percorrer até 6,5 km distantes da colmeia em busca de alimento, criando uma área potencial de busca alimentar de 1 a 28 km², entrando em contato com diferentes matrizes ambientais, como solo, ar e água, em busca de suas necessidades de pólen,

resinas, néctar, água, barro, etc., aumentando as chances de contato com áreas potencialmente tóxicas (MUSSEN, 1996).

Mesmo o tempo de degradação dos agrotóxicos no ambiente sendo muito variável, sua ação nos insetos pode ser fatal em pouco tempo após a exposição ou após longo período de contato por sua capacidade residual. A exposição a doses subletais pode resultar em diversos problemas fisiológicos e comportamentais nos indivíduos atingindo as diversas fases do crescimento, afetando, assim, o funcionamento da colmeia. Alguns efeitos incluem: baixa imunidade a patógenos, alterações morfológicas e fisiológicas, distúrbios comportamentais, diminuição de forrageamento, perda da orientação, alteração da atividade de vôo e olfativa, dentre outros fatores (COSTA et al., 2016; LIMA; ROCHA, 2012; PACÍFICO DA SILVA; MELO; SOTO-BLANCO, 2016; RORTAIS et al., 2005).

Além dos produtos oferecidos pelas abelhas, o serviço ambiental de polinização ganhou destaque e, devido ao fato das abelhas entrarem em contato com diferentes matrizes ambientais, as mesmas podem ser utilizadas como bioindicadores das condições ambientais, quer seja por contato com pólen e néctar contaminados, por água ou solo contaminados (BARGANSKA; SLEBIODA; NAMIESNIK, 2016; GODFRAY et al., 2014; PORRINI et al., 2003b).

3.3.5 Avaliação de risco ambiental

O Manual de Avaliação de Risco Ambiental de Agrotóxicos para Abelhas (CHAM et al, 2017) fornece as orientações para determinar quais efeitos podem surgir nas abelhas pelas diferentes vias de exposição. Para isso, deve-se definir qual é o cenário de exposição, considerando:

- Características físico-químicas do agrotóxico e como elas influenciam o comportamento do produto no meio ambiente;
- Detalhes do padrão de uso do produto: onde, quando, de que forma e quanto do produto é aplicado;

Os parâmetros utilizados para definir a toxicidade do produto avaliado são a concentração que leva a 50% da mortalidade da população testada (CL_{50}) ou a dose que leva a 50% da mortalidade da população testada (DL_{50}). Para avaliar a toxicidade do agrotóxico nas abelhas, se segue um protocolo faseado, em que, cada fase se exige um refinamento do estudo ecotoxicológico do produto caso sua toxicidade não seja definida na primeira fase. De forma mais concisa e limitando aos objetivos do trabalho, na Fase 1, a caracterização do risco

pode ser feita por meio do quociente de risco (QR), que é obtido pela razão entre a Concentração Ambiental Estimada (CAE) e o parâmetro de toxicidade. A CAE pode ser estimada por meio de cálculos ou modelos que simulam o quanto da substância está disponível após a aplicação de determinada quantidade de produto, por determinado modo de aplicação; já o parâmetro de toxicidade é a partir do objetivo do estudo (CL/DL₅₀...). Concentrando na Fase 1, esta visa somente responder se há risco ou não, identificando com segurança, os produtos que não apresentam risco para as abelhas. Para isso, utilizam-se cálculos que indicam se a exposição esperada é suficiente para que a manifestação do efeito tóxico possa ocorrer. Nesta fase, o QR é comparado com os gatilhos de 0,4 e 1 para risco agudo e crônico, respectivamente. O QR é comparado ao valor de 0,4 – para risco agudo – ou ao valor de 1, para risco crônico.

Para IBAMA (2017),

[..]Esses valores são considerados gatilhos, ou seja, se forem excedidos, indicam potencial risco, portanto, há necessidade de refinar a avaliação. O valor de 0,4 com o qual o QR agudo é comparado foi estabelecido pela US-EPA, com base na média histórica da relação dose-resposta de estudos de toxicidade aguda com abelhas (inclinação média de 3,2) e no nível de 10% de mortalidade, que é o limite de mortalidade aceito nos grupos-controle. Um quociente de risco maior que 0,4 representa um cenário no qual 10% ou mais das abelhas, no meio ambiente, seriam mortas se expostas ao agrotóxico na dose avaliada. O QR crônico é comparado ao valor de 1, pois sua obtenção se dá pelo uso do NOEC como *endpoint* de toxicidade, que é um valor de “não efeito”. Se a exposição é menor ou igual ao NOEC, significa que está abaixo ou em nível que não causa efeito. [..]

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Agrotóxicos utilizados

Foram testadas duas formulações de agrotóxicos, o inseticida/acaricida KraftEC®(36 g/L de abamectina), e o inseticida Imidacloprido Nortox 400 SC® (480 g/L de imidacloprido) e também o padrão imidacloprido (99,99 % pureza).

O inseticida/acaricida Kraft 36 EC formulado e produzido no Brasil pela Cheminova Brasil Ltda, tem como ingrediente ativo a abamectina do grupo químico avermectina (AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ- ADAPAR, 2019a).

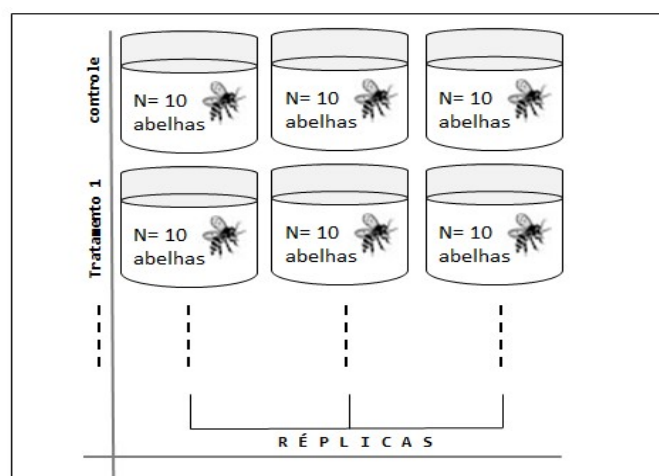
O padrão analítico de Imidacloprido foi formulado por Sigma Aldrich® apresentando 99,99% de pureza, já o produto comercial Imidacloprido Nortox 400 SC®, é formulado pela Bio - chemical Co., Ltd.e produzido no Brasil pela Nortox S/A, tem como ingrediente ativo o imidacloprido do grupo químico neonicotinoide 480g/L (ADAPAR, 2019b).

4.2 Desenvolvimento experimental

Os bioensaios de toxicidade foram realizados no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA) do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CHREA) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Universidade de São Paulo (USP), seguindo os protocolos da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico n° 213 (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico - OECD, 1998), desenvolvidos para avaliação laboratorial da toxicidade de agrotóxicos em abelhas operárias adultas da espécie *Apis mellifera*.

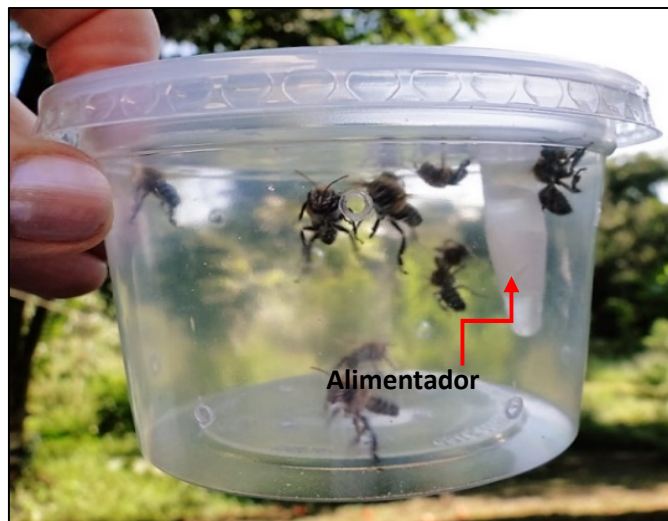
Em cada bioensaio foram testadas ao menos cinco concentrações de cada agrotóxico com três réplicas para cada concentração. Cada réplica consistiu de uma câmara de teste ou gaiola plástica descartável de 250 mL com 10 abelhas de uma mesma colônia. Cada grupo de três réplicas de uma mesma concentração foi composto por abelhas de colônias distintas, porém oriundas de colônias irmãs (Figura 8). Em cada câmara de teste foram adaptados alimentadores do tipo tubo *eppendorf* de 1,5 mL com um furo na região inferior com 1 mL de solução de sacarose 50% (Figura 9).

Figura 8. Esquema de três réplicas por concentração, cada qual com 10 abelhas provenientes de colônias distintas, totalizando 30 abelhas por concentração testada.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Figura 9. Câmara de teste. Em destaque o alimentador do tipo tubo *ependorf* de 1,5 mL acoplado e contendo a solução de sacarose ofertada em caráter emergencial às abelhas recém coletadas.



Fonte: Própria autora.

4.3 *Melipona scutellaris* como organismo teste

Para os experimentos foram utilizadas abelhas adultas forrageiras da espécie nativa *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). As abelhas utilizadas nos testes foram provenientes de 14 colônias oriundas de duas irmãs, criadas em caixas padronizadas e mantidas ao ar livre no Meliponário Experimental instalado no Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais

(CRHEA, EESC, USP) localizado no município de Itirapina desde o ano de 2010 (Figura 11)

Para todos os testes foram utilizadas abelhas adultas (campeiras) oriundas de colmeias saudáveis. A sanidade das 14 colônias foi verificada durante toda fase experimental. A colmeia foi considerada saudável quando apresentou intensa atividade de forrageamento, construção ativa de potes preenchidos com pólen e mel, rainha mantendo boa postura, o que pode ser confirmado pela periódica explosão de jovens abelhas concentradas na melgueira, agressividade natural ao abrir a mesma e ausência de predadores ou parasitas avaliados visualmente. As abelhas foram coletadas na saída das colônias utilizando as câmaras de teste e com o auxílio de um extensor plástico (Figura 12). A coleta ocorreu sempre no período da manhã de cada dia de teste. O transporte das abelhas nas câmaras de teste do meliponário até o laboratório foi feito em caixas escuras e foi oferecida alimentação emergencial composta de solução de açúcar/água (50%) a fim de diminuir o estresse dos insetos e assegurar uma melhor condição dos animais para submissão ao teste.

Em laboratório as abelhas foram mantidas sob aclimatação por 2 ou 3 horas dentro de estufas de Demanda Bioquímica de Oxigênio (Biochemical Oxygen Demand – BOD) a $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa na faixa de 50 a 70%, sendo que a alimentação das abelhas foi interrompida 2 horas antes do início do teste.

Figura 10. Vista geral do Meliponário Experimental do CRHEA, com destaque para as colméias de *M. scutellaris*.



Fonte: tirada por BRIGANTE (2017).

Figura 11. Coleta das abelhas *M. scutellaris* na saída da colônia utilizando a câmara de teste (gaiola) e um extensor, ambos de plástico.



Fonte: tirada por BRIGANTE (2017).

4.4 Testes para determinação do Quociente de Risco da abamectina e do imidacloprido a partir da CL_{50}

a) Determinação das concentrações dos agrotóxicos

Para determinar a faixa de resposta dos organismos para cada um dos agrotóxicos testados foram montados bioensaios preliminares baseando-se nas concentrações nominais de cada produto. Realizado os testes preliminares e definido o intervalo de concentrações no qual houve variação da mortalidade das abelhas (ao menos entre 10 e 90%), foram realizados os bioensaios definitivos. Cada bioensaio contou com um mínimo de cinco concentrações com três réplicas para cada concentração e 10 abelhas por réplica, além do grupo controle. Cada produto foi diluído em cascata diretamente em solução de sacarose (50%), com exceção do ingrediente ativo imidacloprido que foi diluído em um solvente de baixa toxicidade, como a acetona. A concentração deste veículo dependeu da solubilidade do produto técnico e foi mantida a mesma para todas as concentrações testadas, respeitando-se um limite de 1% de acetona na concentração final. Nos bioensaios com o ingrediente ativo, um controle – solvente (acetona 1%) foi adicionado.

Para a abamectina, na formulação comercial, foram testadas as concentrações: 0,007; 0,018; 0,033; 0,074; 0,16 e 0,36 μg de abamectina/ μL . Para o imidacloprido, produto comercial, foram testadas as concentrações: 0,00075; 0,001; 0,0025; 0,005; 0,0075; 0,01; 0,025; 0,05 μg de imidacloprido/ μL . Para o padrão imidacloprido foram testadas as concentrações: 0,000086; 0,0002; 0,0005; 0,00125; 0,003; 0,0075 μg ingrediente ativo/ μL .

b) Teste de repelência da abamectina para a *M. scutellaris*

Considerando que o cálculo da DL_{50} da abamectina para *M. scutellaris* tomou como base o consumo diário de dieta ofertada em condições experimentais, foi então testado o possível efeito repelente do inseticida, seguindo o delineamento experimental de Thompson e Wilkins (2003) com modificações.

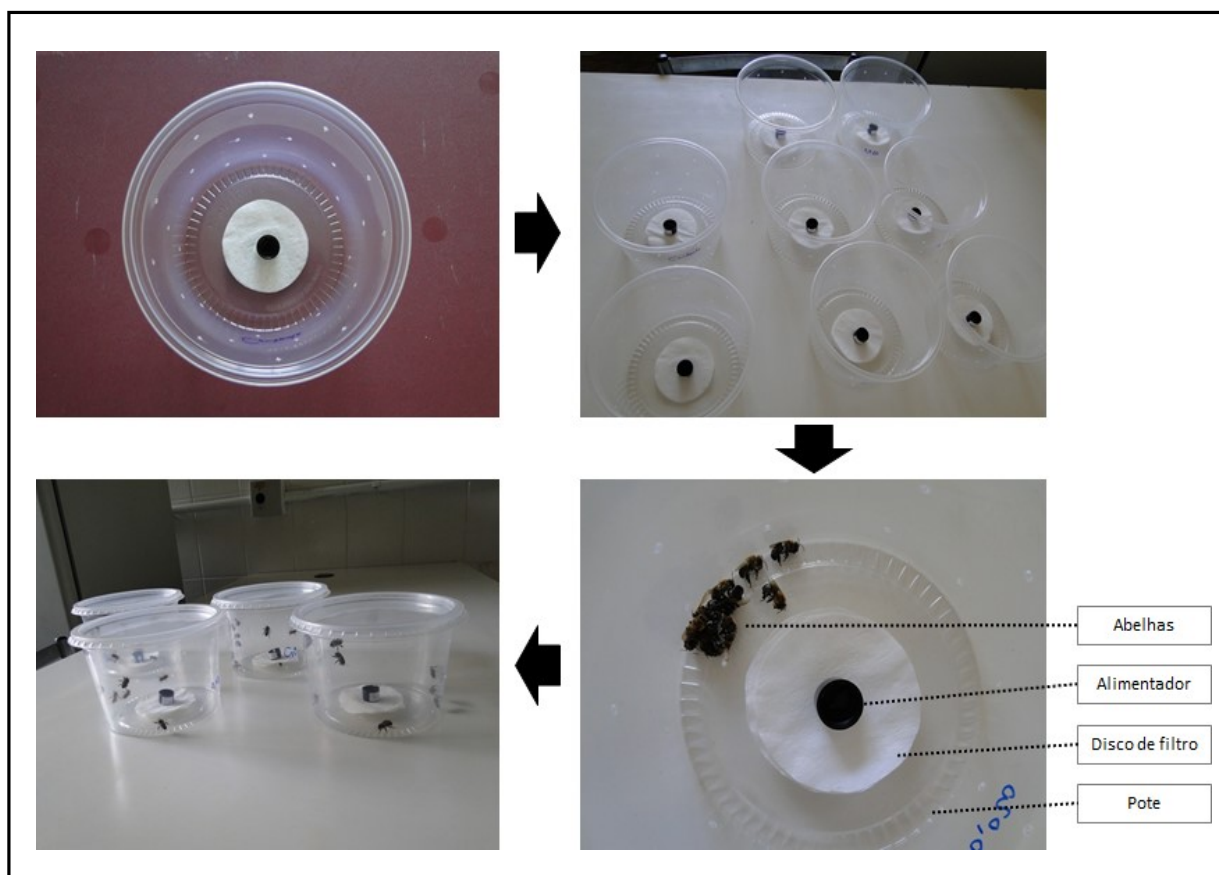
As gaiolas experimentais foram montadas utilizando potes plásticos de 500 mL com furos para aeração e diâmetro da base de 12 cm (área de 113,04 cm²), sendo colocado no fundo deste pote um disco de papel de filtro com diâmetro de 6,46 cm. O disco de papel foi embebido previamente com duas doses do inseticida Kraft (abamectina) (22,5 g e 10,8 g de i.a./ha), e o controle sem contaminação. A dose de 22,5 g/ha correspondeu a mais alta dose recomendada em campo e indicada para o cultivo do crisântemo. A dose de 10,8 g/ha correspondeu à dose média recomendada em campo considerando todos os cultivos com flores atrativas às abelhas (algodão; batata; *citrus*; crisântemo; feijão; maçã; mamão; morango e tomate). Foi preparada uma solução padrão de 1 µg i.a./µL e, a partir desta, foram feitas diluições em cascata até atingir as concentrações desejadas.

O papel de filtro foi tratado com a aplicação de volume conhecido do inseticida diluído em água. A quantidade de inseticida aplicada nos filtros foi suficiente para atingir a dosagem estabelecida em campo. Foram usadas três réplicas por tratamento. Apesar do uso do Kraft em campo recomendar a adição de óleo vegetal para pulverização foliar de alguns cultivos, como o morango, o mesmo não foi adicionado às soluções teste.

Cada disco de papel pulverizado foi mantido em repouso para secar. Após evaporação, cada disco foi depositado no fundo da gaiola e, no centro de cada disco foi colocado um alimentador contendo solução de sacarose 50% com peso conhecido. As abelhas forrageiras de *M. scutellaris* coletadas na saída da colmeia, foram mantidas sob aclimatação em estufa BOD 28 ± 2°C e 65% de umidade relativa conforme mostra a figura 12.

No momento do teste as abelhas foram anestesiadas com CO² por 8 minutos, sendo que para cada amostra testada foram colocadas 10 abelhas. O experimento durou 6 horas, com a retirada do alimentador para pesagem. As diferenças de volume consumido comparativamente ao consumo da amostra controle foram avaliadas.

Figuras 12. Imagens da montagem do bioensaio de repelência na sequência das setas.



Fonte: tirada por BRIGANTE (2017).

c) Testes de consumo de sacarose pela *M. scutellaris*

Um teste foi realizado para se conhecer a quantidade média diária de alimento ofertado (sacarose 50%) à *M. scutellaris* nas mesmas condições dos bioensaios, porém sem contaminação. Dois diferentes tipos de alimentadores foram testados, uma vez que as duas formas estão presentes durante os bioensaios, ou seja, o alimentador emergencial adaptado horizontalmente na gaiola e contendo abertura maior com algodão embebido em sacarose, e o alimentador vertical, que acompanha a oferta de alimento contaminado (e o controle).

O tipo horizontal foi utilizado com o objetivo de facilitar a localização e o acesso ao alimento no momento imediato do aprisionamento das abelhas nas gaiolas-teste de modo a reduzir perdas de indivíduos devido estresse. O alimentador vertical foi utilizado durante os bioensaios para oferta o alimento contaminado. Uma vez que este alimentador apresentava apenas um único furo de, aproximadamente, 2mm de diâmetro, era menor a probabilidade das

abelhas se exporem por meio da via de contato (toque das patas e outras partes do corpo), o que significaria a ocorrência de outra via de contaminação durante o teste.

Para tanto, abelhas foram aprisionadas em gaiolas-teste e, após um período de 2 horas de jejum, todas receberam sacarose (50%). O alimento ofertado foi pesado no tempo zero e após 24 horas de exposição.

d) Teste oral de toxicidade aguda da abamectina e imidacloprido

Após a exposição das abelhas às diferentes concentrações dos pesticidas, os mesmos foram mantidos em exposição pelo período de 6 horas, sendo posteriormente trocados por alimento sem contaminação que seguiu até o final do teste. A duração do teste foi de, no mínimo 48 horas, sendo estendido até 96 horas caso houvesse variação na mortalidade maior que 10% no período entre 24 e 48 horas. A primeira leitura do teste foi realizada seis horas após o início, sendo que as demais leituras foram realizadas em intervalos de 24 horas a partir da hora do início do teste. As abelhas mortas foram contabilizadas em cada período e retiradas dos potes para continuação do teste.

Figura 13. Preparo das amostras para os bioensaios de toxicidade oral. Na foto à esquerda é destacado o alimentador emergencial ainda acoplado à gaiola em que se pode notar uma abelha se alimentando de xarope.



Fonte: tirada por BRIGANTE (2017).

e) Determinação da DL₅₀ da abamectina e imidacloprido

Para o imidacloprido, com base nos 1000 μ L de alimento oferecido no tempo zero, obteve-se o quanto foi consumido em média por abelha, em relação a cada concentração e para cada tempo de duração de teste. Como se observou que para cada agrotóxico existia uma concentração letal que matava 50% dos indivíduos (CL₅₀), obtida estatisticamente, a partir

desta, os valores de consumo médio das concentrações acima e abaixo foram utilizadas para obter um valor médio de referência de consumo da abelha e multiplicado com a CL_{50} , se definiu a DL_{50} .

Para a abamectina, como houve erros de análise para determinação do consumo do agrotóxico pelas abelhas, utilizou os de sacarose como referência, multiplicando pela CL_{50} obtida estatisticamente para obter a DL_{50} para cada tempo de exposição definido.

f) Cálculo do Quociente de Risco (QR)

Para avaliar os efeitos tóxicos produzidos pelos níveis de exposição oral, utiliza-se o cálculo do quociente de risco (QR), em outras palavras:

$$\text{QR} = \frac{\text{Concentração Ambiental Estimada (CAE)}}{\text{Parâmetro de Toxicidade}} \quad (1)$$

Considerando que no presente trabalho se busca a conhecer a dose que leva a letalidade de 50% dos indivíduos, considera-se, então a DL_{50} como o parâmetro de toxicidade a ser utilizado para o cálculo do quociente de risco de cada agrotóxico. Tratando-se da exposição oral, temos que Rortais et al. (2005) encontraram como valor de taxa de consumo alimentar da *Apis mellifera* de 292 mg/dia, já para a abelha nativa em questão, tem-se 39,5 mg/dia (calculado no trabalho), que é o agente responsável pelo estresse do teste.

4.5 Análises dos dados

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para calcular a CL_{50} dos agrotóxicos. Foi aplicado o teste de Dunnett, quando houve diferenças entre os tratamentos. Os dados foram ajustados com um parâmetro modificado de três usando a equação Sigmoidal, curva logística. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o SigmaPlot versão 11.0, da Systat Software, Inc., San Jose, Califórnia, EUA, www.systatsoftware.com.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Efeito de repelência da *M. scutellaris* ao Kraft

Por ser muito pertinente esta informação para o teste de repelência das abelhas pelo Kraft, o consumo da abamectina será apresentado pela Tabela 1. Os valores obtidos mostraram que o consumo da sacarose contaminada com abamectina na dose média de campo, e aplicada na maioria dos cultivos recomendados no receituário agrônômico, não diferiu do consumo do controle, indicando que na realidade agrícola, considerando que seja aplicada a dose recomendada, não ocorre repelência da abelha testada ao produto e assim, para o teste que foi realizado neste trabalho, os resultados obtidos da mortalidade estão diretamente ligados ao consumo da abamectina. No entanto, a dose utilizada para o crisântemo indicou possível repelência. A dose recomendada para o cultivo do crisântemo é a mais alta dose aplicada comparativamente a todos os demais cultivos em que a abamectina é autorizada.

Avaliando-se os resultados apresentados na Tabela 2, relativo ao possível efeito repelente do produto comercial Kraft sobre a *M. scutellaris*, observou-se que dentro dos intervalos de concentrações testadas em laboratório, este efeito repelente não foi evidenciado, com as abelhas do controle consumindo próximo do consumo das abelhas submetidas aos agrotóxicos estudados presença nas quantidades recomendadas em campo.

Tabela 1. Valores de consumo de sacarose (50%) em teste de consumo com *M. scutellaris* sob condições de laboratório.

Alimentador	N Inicial de Abelhas	Massa Inicial do Alimentador (g)	Massa 24h (g)	Inicial - Final Alimentador (g)	Média controle	Consumo Menos Controle	Estimativa consumo por abelha (g)
CH 1	0	2,5426	2,4173	0,1253	0,1314		
CH 2	0	2,3598	2,2487	0,1111	0,1314		
CH 3	0	2,5847	2,4268	0,1579	0,1314		
H 4	11	2,6839	2,1369	0,5470	0,1314	0,4156	0,037
H 5	11	2,6676	2,1771	0,4905	0,1314	0,3591	0,032
H 6	10	2,4469	1,9125	0,5344	0,1314	0,4030	0,040
H 7	10	2,4047	1,8574	0,5473	0,1314	0,4159	0,041
H 8	10	2,3311	1,9344	0,3967	0,1314	0,2653	0,026
Média							0,035
CV1	0	2,2413	2,1733	0,0680	0,0626		
CV2	0	2,2390	2,1692	0,0698	0,0626		
CV3	0	2,2454	2,1953	0,0501	0,0626		
V4	9	2,3091	1,8270	0,4821	0,0626	0,4195	0,046
V5	10	2,3279	1,7293	0,5986	0,0626	0,5360	0,053
V6	10	2,2842	1,7593	0,5249	0,0626	0,4623	0,046
V7	11	2,2558	1,7242	0,5316	0,0626	0,4690	0,042
V8	10	2,3382	1,9516	0,3866	0,0626	0,3240	0,032
Média							0,044
Média final de consumo							0,0395 g de dieta/dia

CH: controle alimentador horizontal; H: alimentador horizontal; CV: controle alimentador vertical; V: alimentador vertical.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

E com o objetivo de subsidiar o cálculo da DL₅₀ da abamectina com base no consumo diário de sacarose pela *M. scutellaris* sob condições de teste e com os dois tipos de alimentadores envolvidos nos bioensaios (horizontal e vertical), obteve-se que o consumo médio foi de 39,5 mg de dieta/dia, o que correspondeu a 23,31 µL/dia.

Tabela 2. Consumo da solução de sacarose no teste de repelência ao Kraft 36EC®.

Tratamento	Réplicas	Massa do alimentador vazio (g)	Massa do alimentador cheio (g)	Massa adicionada (g)	Massa total após 6h (g)	Consumo de sacarose em 6h (g)	Consumo de sacarose /abelha (g)	Consumo médio de sacarose (g)	Intervalo de consumo (g)
Controle	C0	0,679	1,815	1,136	1,785	1,106	0,030	0,11 ± 0,075	0,035 - 0,185 [controle]
	C0	0,663	1,799	1,136	1,620	0,957	0,179		
	C0	0,684	1,807	1,136	1,702	1,018	0,118		
22,5 g/ha	C1	0,662	1,818	1,156	1,805	1,143	0,013	0,01 ± 0,01	0 - 0,02 [Crisântemo]
	C1	0,676	1,779	1,103	1,776	1,100	0,003		
	C1	0,690	1,856	1,166	1,834	1,144	0,022		
10,8 g/ha	C2	0,662	1,837	1,174	1,658	0,995	0,179	0,13 ± 0,047	0,083 - 0,177 [Dose campo]
	C2	0,671	1,893	1,222	1,763	1,092	0,130		
	C2	0,650	1,882	1,232	1,798	1,148	0,084		

*Controle (disco com 0,0g kraft/ha); **Tratamento 1: (disco embebido com 22,5g kraft/ha);

***Tratamento 2: (disco embebido com 10,8gkraft/ha)

Fonte: Elaborada pela própria autora.

b) Concentração letal e evolução da mortalidade

A suscetibilidade aos inseticidas abamectina e imidacloprido foi avaliada para forrageiras de *M. scutellaris* via exposição oral.

Os resultados de Concentração Letal (CL₅₀) obtidos a partir das análises estatísticas mostraram que houve variação na sensibilidade oral das abelhas aos agrotóxicos, com o imidacloprido apresentando maior efeito (Tabela 3).

Apesar dos diferentes tempos em que foi possível calcular estatisticamente a CL₅₀ dos agrotóxicos, observou-se que o imidacloprido como padrão analítico apresentou a maior amplitude de variação de concentração letal nos tempos amostrados (0,00019 a 0,0014 µg i.a. /µL), abamectina variou de 0,0019 a 0,0057 µg i.a. /µL e imidacloprido produto comercial variou de 0,0017 a 0,0061 µg i.a. /µL. Um resumo da análise estatística (teste da ANOVA e

Regressão Não Linear) está apresentado em Anexos como “Análise de Variância e Regressão Não Linear dos Dados de Mortalidade”.

Tabela 3. Toxicidade relativa da abamectina e imidacloprido (ambas as formulações) ingeridos pela abelha *M. scutellaris*.

Produto	Tipo de formulação	Nº	Tempo de exposição (h)	CL ₅₀ (IC 95%) (µg i.a. /µL de dieta)
Abamectina	Kraft 36EC®	360	48	0,0049 (0,0041 – 0,0057)
			72	0,0022 (0,0019 – 0,0025)
Imidacloprido	Padrão analítico	244	24	0,0011 (0,0008 – 0,0014)
			48	0,0004 (0,0003 – 0,0005)
			72	0,0002 (0,00019 – 0,00021)
Imidacloprido	Imidacloprido 400SC®	267	6h	0,0039 (0,0017- 0,0061)
			24h	nd

nd: não determinado estatisticamente.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

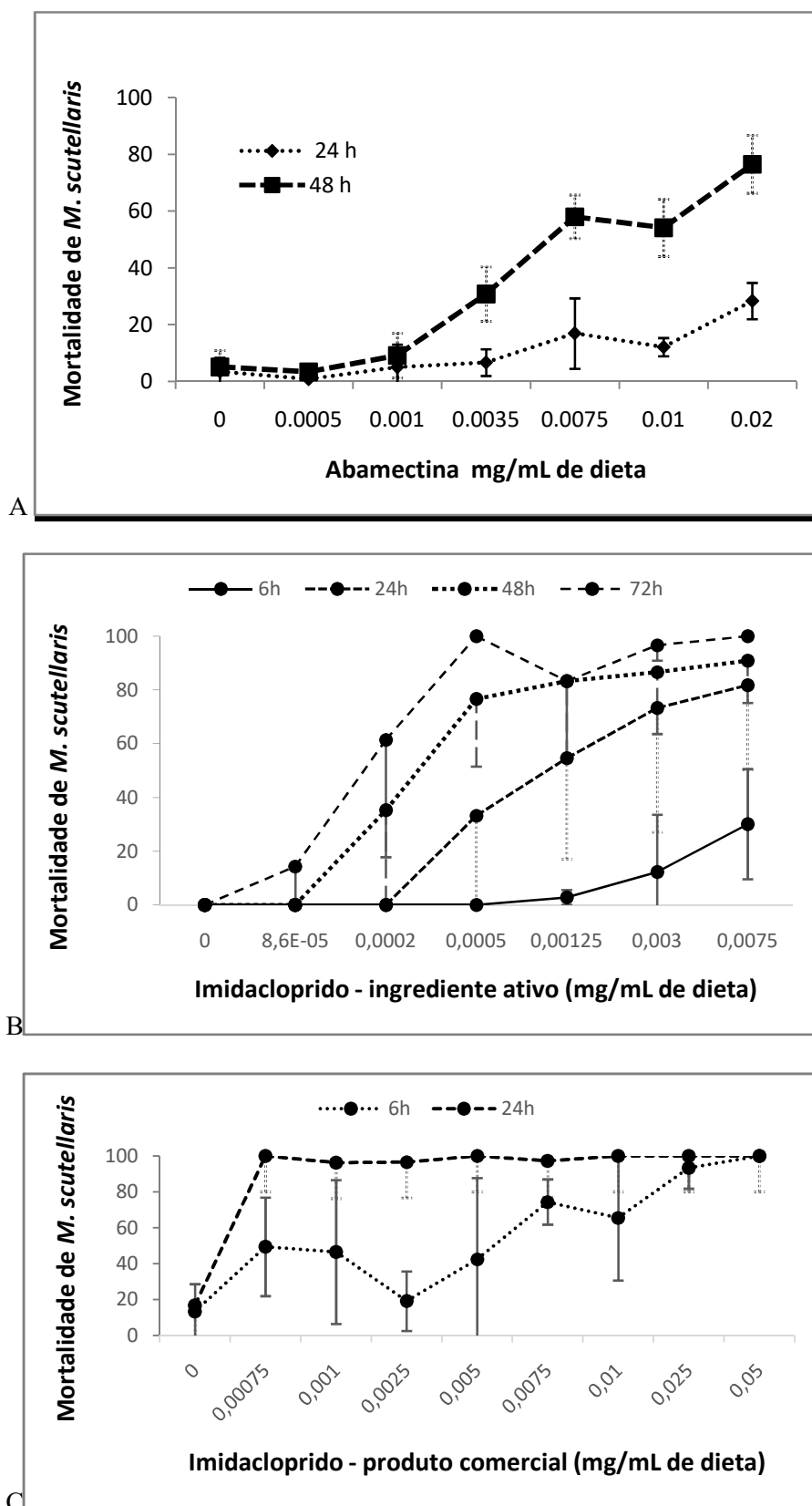
A CL₅₀ das abelhas expostas à abamectina registrado para 72 horas foi menor que o de 48 horas, pois, se considerou o tempo de exposição médio dos indivíduos da amostra para a concentração, ou seja, quanto mais tempo as abelhas permaneceram expostas ao alimento contaminado no intervalo inicial de tempo de 6h, menor a concentração requerida para causar 50% de mortalidade, se aplica, também para a CL₅₀ do imidacloprido (p.c.) 72h em comparação à 48h, e este a 24h. Os dados para os demais tempos para o imidacloprido (i.a) não são apresentados, pois não atenderam aos pré-requisitos para ANOVA - normalidade dos dados e homogeneidade de variância.

A evolução da mortalidade após ingestão dos agrotóxicos também mostrou variação na resposta de acordo com as concentrações de teste. Para abamectina, a mais alta concentração usada neste trabalho (0,02 mg.mL⁻¹) resultou na taxa de mortalidade de 28,3 % após 24h de exposição. Em 48h de exposição às três maiores concentrações testadas (0,0075; 0,01 e 0,02) resultaram em taxas de mortalidade entre 58% e abaixo de 80% (Figura 14 (a)).

O imidacloprido padrão analítico do ingrediente ativo apresentou taxa de mortalidade de 30,1 % e 82 % na mais alta concentração testada (0,0075 mg.mL⁻¹), respectivamente para 24h e 48h de exposição (Figura 14 (b)). Já o imidacloprido produto comercial apresentou elevada taxa de mortalidade nas primeiras 6h de exposição para sete das oito concentrações

testadas (valores entre 13 % e 93,3 %), sendo que a maior concentração ($0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$) apresentou 100 % de mortalidade. Para o mesmo agrotóxico em 24h de exposição para as abelhas, a taxa de mortalidade foi de 100% para todas as concentrações (Figura 14 (c)).

Figura 14. Evolução da mortalidade de forrageiras de *M. scutellaris* à abamectina (A); imidacloprido (i.a.) (B) e imidacloprido (p.c.), e I.C. de 95%, sob diferentes tempos de exposição oral.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

c) Determinação dos consumos

Consumo de Imidacloprido (padrão analítico)

Para a determinação da DL₅₀ do imidacloprido (padrão analítico) tomou como base os valores do consumo de sacarose nas primeiras 6h do teste nas diferentes concentrações testadas (Tabela 4).

Tabela 4. Consumo de sacarose com imidacloprido (i.a.) pela *M. scutellaris* durante bioensaio de toxicidade oral.

Concentração de teste imidacloprido (i.a.) (mg.mL ⁻¹)	Volume médio de dieta consumida em 6h/abelha (μL)
0,0	26,0
0,000086	27,7
0,0002	23,7
0,0005	38,8
0,00125	22,0
0,003	16,9

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para o cálculo da DL₅₀ 24h foi utilizado o consumo médio das soluções das concentrações mais próximas da CL₅₀ obtida. Neste caso foram as de 0,00125 e 0,003 mg.mL⁻¹. Para o cálculo da DL₅₀ 48h utilizou-se o consumo médio das concentrações 0,0002 e 0,0005 mg/mL e, para a DL₅₀ de 72h, utilizou-se o consumo médio das soluções de concentrações 0,000086 e 0,0002 mg.mL⁻¹. Resumidamente, o consumo das soluções foram:

Tabela 5. Valores de consumo da abelha *M. scutellaris* para o Imidacloprido (padrão analítico).

Tempo de Exposição (h)	Consumo Médio (μL)
6	19,45
48	31,25
72	25,7

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Consumo de imidacloprido (produto comercial)

Da mesma forma, para o cálculo da DL_{50} do imidacloprido (formulação comercial) foram utilizados os valores médio de consumo (Tabela 5) das soluções nas concentrações abaixo e acima da CL_{50} obtida (CL_{50} 6h = 0,0039 $\mu\text{g i.a./}\mu\text{L}$ de dieta). O valor de CL_{50} 24h não foi determinado estatisticamente. Conseqüentemente, o valor do consumo médio da solução nas primeiras 6h foi extraído do consumo médio das concentrações 0,0025 (8,2 μL) e 0,005 (4,7 μL).

Tabela 6. Valores de consumo de sacarose consumida pela *M. scutellaris* durante o bioensaio de toxicidade oral com imidacloprido (p.c.).

Concentração de teste imidacloprido (formulação comercial) (mg.mL^{-1})	Consumo médio (6 h)/abelha (μL)
0,0	11,4
0,00075	6,0
0,001	4,4
0,0025	8,2
0,005	4,7
0,0075	2,2
0,01	2,8
0,025	3,5
0,05	2,9

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Tabela 7. Valores de consumo da abelha *M. scutellaris* para o Imidacloprido (produto comercial)

Tempo de Exposição (h)	Consumo Médio (μL)
6	19,45
48	31,25

Fonte: Elaborada pela própria autora.

d) Determinação da Dose letal (DL₅₀)

O consumo de sacarose determinado para cada agrotóxico foi relacionado com a obtenção da DL₅₀ (Tabela 8). Baseado nos valores obtidos pode-se afirmar que *M. scutellaris* apresenta maior sensibilidade (DL₅₀ 1,0 µg i.a./abelha) à ingestão da abamectina e imidacloprido.

Tabela 8. Toxicidade relativa dos agrotóxicos abamectina e imidacloprido (ambas as formulações) para a abelha *M. scutellaris*.

Produto	Tempo de exposição (h)	CL ₅₀ (Intervalo de Confiança de 95%) µg i.a. /µL de dieta*	DL ₅₀ (Intervalo de Confiança de 95%) µg i.a. /abelha**
Abamectina Kraft 36EC®	48	0,0049 (0,0041 – 0,0057)	0,12 (0,095 – 0,133)
	72	0,0022 (0,0019 – 0,0025)	0,053 (0,044 – 0,060)
Imidacloprido Ingrediente ativo	24	0,0011 (0,0008 – 0,0014)	0,021 (0,016 – 0,027)
	48	0,0004 (0,0003 – 0,0005)	0,012 (0,009 – 0,016)
	72	0,0002 (0,00019 – 0,00021)	0,0051 (0,005 – 0,0054)
Imidacloprido Nortox®	6h	0,0039 (0,0017- 0,0061)	0,025 (0,011- 0,039)
	24h	Nd	Nd

* CL50 determinada estatisticamente.

** DL50 estimada a partir do consumo de sacarose.

nd: não determinada estatisticamente.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

e) Curvas Dose-Resposta da Abamectina e Imidacloprido (produto comercial e padrão analítico) para Validação dos Resultados

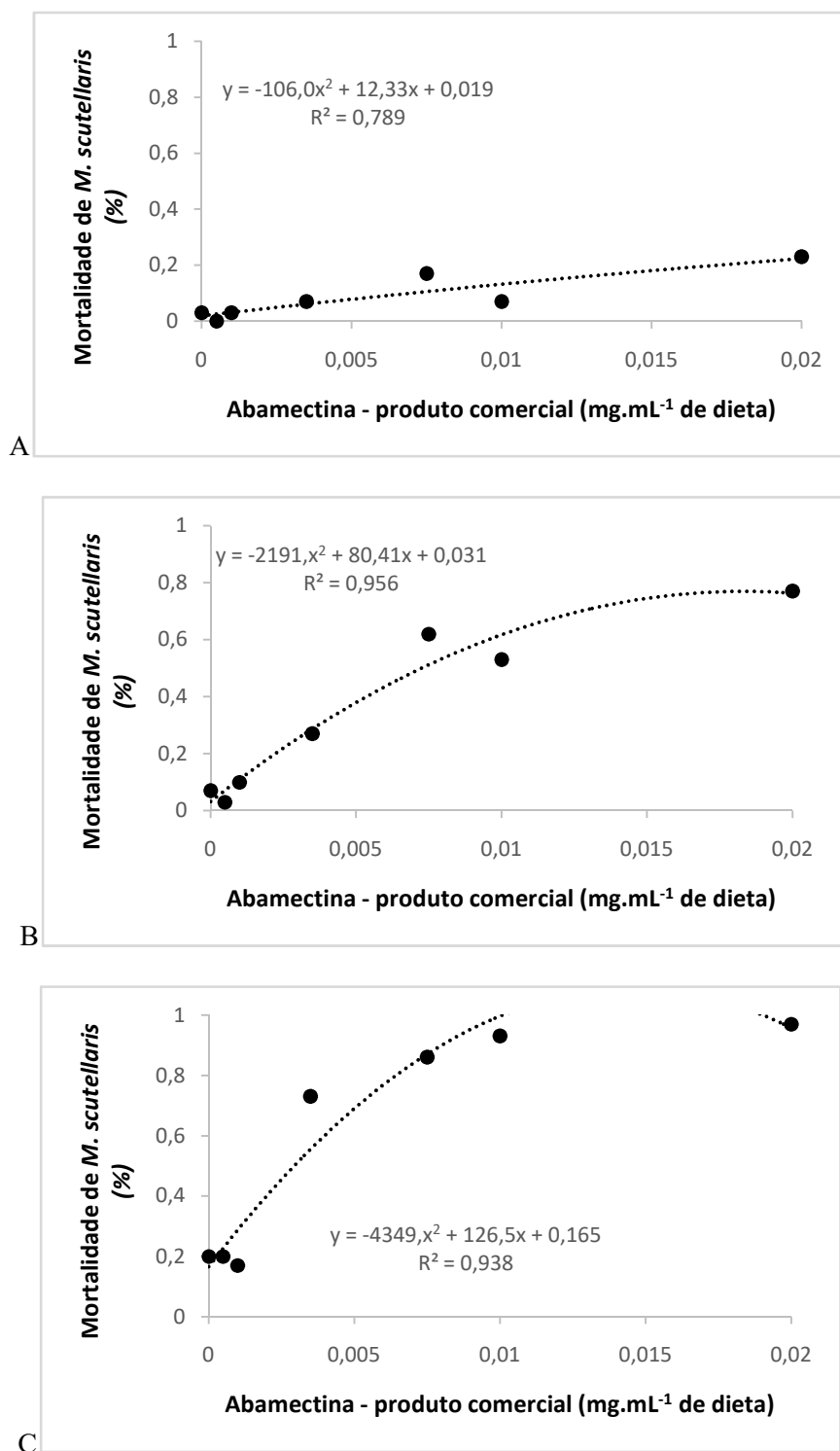
A seguir será apresentado o comportamento das curvas de dose-resposta para os inseticidas testados, com ajuste de modelo não linear (exponencial). O modelo não linear para a abamectina (Figura 15) mostrou um melhor ajuste dos pontos em 48 h de exposição ($R^2 = 0,96$) e nesta curva está indicado que a partir da concentração $0,01 \text{ mg.mL}^{-1}$ houve pouco incremento da mortalidade da abelha, que permaneceu abaixo de 80%.

A curva dose-resposta do imidacloprido (i.a.) mostrou bom ajuste em 6 h e 24 h com R^2 entre 0,96 e 0,99, revelando que a partir da concentração de $0,00121 \text{ mg.mL}^{-1}$ e em 24 h, houve pouco incremento da mortalidade, não superando os 80% (Figura 16).

Com o imidacloprido (p.c.) em que se observou expressiva mortalidade nas primeiras 6 horas do teste, o ajuste não foi o ideal, apresentando em 6 h e 24 h um valor de $R^2 = 0,87$ e

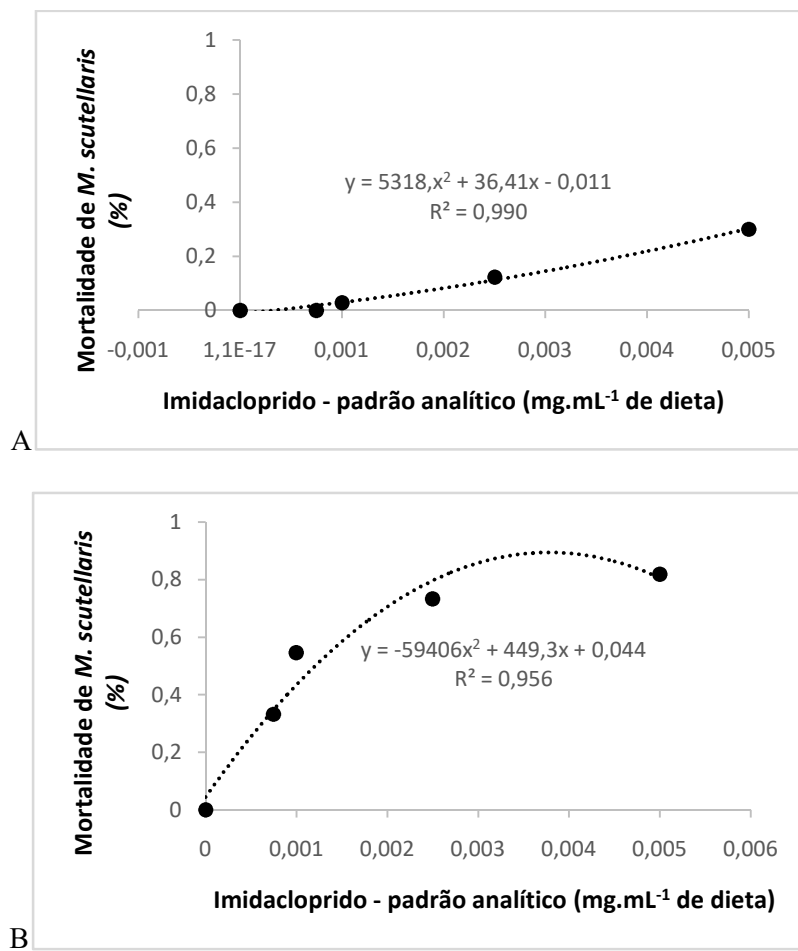
0,65, respectivamente. Este produto mostrou redução no incremento da mortalidade a partir da concentração de $0,0025 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, até atingir 100 % (Figura 17).

Figura 15. Toxicidade aguda oral 24h (A) e 48h (B) e 72h (C) do inseticida Abamectina (Kraft 36EC®) para forrageiras de *M. scutellaris*.



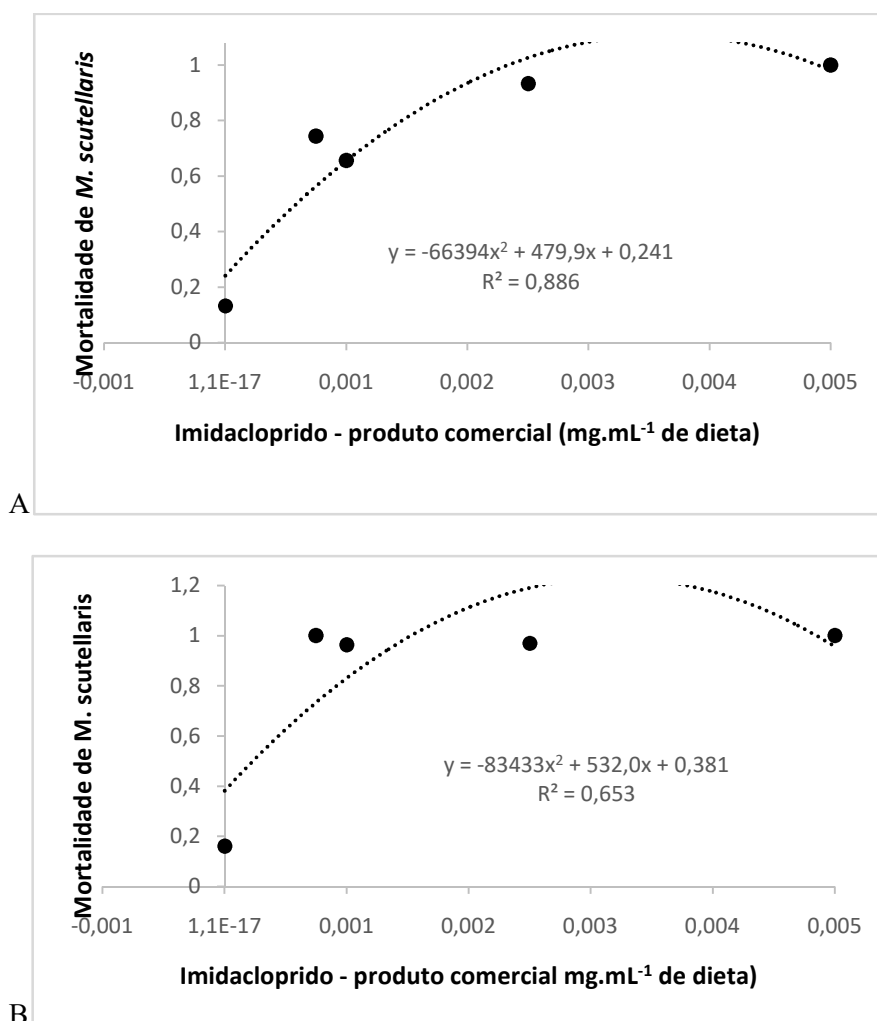
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 16. Toxicidade aguda oral 6h (A) e 24h (B) do inseticida Imidacloprido (i.a.) para forrageiras de *M. scutellaris*.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 17. Toxicidade aguda oral 6h (A) e 24h (B) do inseticida Imidacloprido (p.c.) para forrageiras de *M. scutellaris*.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

f) Determinação do Quociente de Risco (QR)

De acordo com Cham et al (2017), a análise do Quociente de Risco (QR) com base na Concentração Ambiental Prevista (PEC) indicou um risco aceitável para a abamectina nos tempos avaliados de exposição oral. Porém, o QR do imidacloprido como padrão analítico e como formulação comercial indicou um risco agudo para todas as doses recomendadas de todos os cultivos considerados e em todos os períodos de exposição, superando o gatilho (0,4) no intervalo de 3,5 a 40 vezes (Tabela 9).

Os agrotóxicos foram classificados por Felton, Oomen e Stevenson (1986) de acordo com sua toxicidade às abelhas nas seguintes categorias: altamente tóxico ($DL_{50} < 1.0 \mu\text{g i.a./abelha}$), moderadamente tóxico ($1.1 < DL_{50} < 10 \mu\text{g i.a./abelha}$), levemente tóxico ($10.1 < DL_{50} \leq 100 \mu\text{g i.a./abelha}$), e virtualmente não tóxico ($DL_{50} > 100 \mu\text{g i.a./abelha}$).

Didaticamente, estas categorias facilitam a comparação entre os agrotóxicos testados, o que significa que o imidacloprido e a abamectina foram altamente tóxicas para a *M. scutellaris*.

Tabela 9. Valores de QR dos agrotóxicos testados para *M. scutellaris*.

Cultivos	Abamectina		Imidacloprido			
	(p.c.)		(i.a.)			(p.c.)
	48 h	72 h	24h	48 h	72 h	6h
Algodão	0,0456	0,0998	3,9667	6,9417	16,3333	3,3343
Batata	0,076	0,1664	1,68	2,94	6,9176	1,4124
Citrus	0,0456	0,0998	3,36	5,88	13,8353	2,82
Crisântemo	0,095	0,208	---	---	---	---
Feijão	0,076	0,1664	2,464	4,312	10,1459	2,0705
Maçã	0,076	0,1664	---	---	---	---
Mamão	0,0731	0,1599	---	---	---	---
Morango	0,0456	0,0998	---	---	---	---
Tomate	0,076	0,1664	2,24	3,92	9,2235	1,8853

---: produto não autorizado.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Segunda a bula comercial registrada no MAPA (nº 07703) (ADAPAR, 2019a) o Kraft 36 EC é extremamente tóxico na classificação toxicológica (nível I) e muito perigoso ao meio ambiente na classificação de potencial periculosidade ambiental (nível II). É altamente tóxico para organismos aquáticos e abelhas, podendo atingir outros insetos benéficos. Há ainda a recomendação para não aplicação do produto no período de maior visitação das abelhas.

De acordo com ADAPAR (2019a) o inseticida e acaricida é registrado para uso em 11 culturas: algodão, batata, café, citros, crisântemo, feijão, maçã, mamão, morango, soja e tomate. Realizado no Brasil por Del Sarto et al. (2014) foi verificado que o princípio ativo abamectina é altamente tóxico em testes de exposição por via oral ($DL_{50} < 1,0 \mu\text{L i.a./abelha}$) para operárias de *Melipona quadrifasciata* e *Apis mellifera*.

Na literatura há escassez de dados sobre o efeito da abamectina em abelhas, especialmente via oral e ainda mais sobre espécies nativas. No VSDB - Veterinary Substances DataBase (Univ. Hertfordshire), a abamectina é considerada medianamente tóxica para as abelhas do gênero *Apis* via contato, não sendo conclusivo os efeitos via oral. Porém, os resultados obtidos neste trabalho corroboram com aqueles encontrados por Carvalho et al. (2009), que avaliando a exposição de contato e oral da abamectina na dosagem recomendada

para uso em campo sobre a abelha *Apis mellifera*, concluíram que o produto foi altamente tóxico para a espécie, matando 100% das abelhas 18 horas após a ingestão.

Os resultados obtidos neste estudo também corroboram com aqueles publicados na avaliação de risco apresentada no Draft Assessment Report (DAR, 2006) com abamectina aplicada em culturas de citrus e tomate, os quais indicaram possível alto risco para as abelhas *Apis mellifera* quando expostas via oral e contato. Também afirmam os resultados obtidos por Del Sarto et al. (2014) que verificaram a alta toxicidade da abamectina por exposição via oral para *M. quadrifasciata*, com DL_{50} de 0,013 - 0,016 μg i.a./abelha, semelhante ao obtido para a *Apis mellifera* no mesmo estudo, ou seja, DL_{50} de 0,010 - 0,012 μg i.a./abelha).

Os resultados dos testes de repelência da *M. scutellaris* à abamectina subsidiam os resultados obtidos de toxicidade. Apesar da indicação de possível repelência a altas concentrações do inseticida, a dose média de abamectina testada em laboratório se aproxima da realidade de aplicação em campo para a maioria dos cultivos. A dose média testada foi cerca de 50% menor do que a maior dose recomendada para o crisântemo.

De acordo com ADAPAR (2019b), o imidacloprido age por ação sistêmica nas culturas do algodão, arroz, arroz irrigado, batata, cana-de-açúcar, citros, feijão, fumo, milho, soja, tomate e trigo, apresentando controle para os alvos biológicos. Segunda a bula comercial registrada no MAPA (n° 11012) (ADAPAR, 2019b) altamente tóxico na classificação toxicológica (nível II) e perigoso ao meio ambiente na classificação de potencial periculosidade ambiental (nível III). É altamente tóxico para abelhas e minhocas, podendo atingir outros insetos benéficos. Há ainda a recomendação para não aplicação do produto no período de maior visitação das abelhas.

Para o imidacloprido ainda são poucos os trabalhos de sensibilidade envolvendo abelhas nativas. A espécie *Apis mellifera* também é a abelha mais utilizada nas pesquisas para avaliar os efeitos letais dos neonicotinoides, além de estudos sobre efeitos subletais. Decourtye, Lacassie e Pham-Delegue (2003) deduziram que 20% das abelhas seriam mortas na maior de concentração de imidacloprido nas primeiras horas de teste letal. Considerando as abelhas nativas, uma pesquisa com a *Scaptotrigona postica* apresentou resistência variada ao inseticida de acordo com a via de exposição e apresentou maior sensibilidade que a *M. scutellaris* para o produto (SOARES, 2009).

Na literatura constam diferentes dados de toxicidade oral do imidacloprido para *A. mellifera*: DL_{50} (48h) = 0,0037 – 0,04 μg /abelha (SCHUMUCK et al., 2001); DL_{50} (48h) = 0,041 → 0,081 μg /abelha (SCHUMUCK; NAUEN; EBBINGHAUS-KINTSCHER, 2003); DL_{50} (24 e 48h) = 0,005 μg /abelha (SUCHAIL; DEBRAUWER; BELZUNCES; 2004),

comprovando que os dados obtidos estão dentro da faixa encontrada por outros autores e mostrando que, apesar da *M. scutellaris* ter se mostrado menos sensível que a *Scaptotrigona postica* ao imidacloprido, a primeira apresenta uma dose letal muito inferior que a *Apis*, indicando a maior sensibilidade da espécie. Estudos revelam que a toxicidade do imidacloprido para as abelhas é devido à presença do grupo funcional nitro que possui grande afinidade ao receptor nicotínico de acetilcolina (TOMIZAWA; CASIDA, 2003).

A parte das características químicas dos produtos sabe-se que a variação de sensibilidade entre as espécies de abelhas aos vários tipos de inseticidas tem forte relação com sua capacidade de detoxificação realizada pelas enzimas (DAUTERMAN, 1994), fatos que exigem aprofundamento das análises. É conhecido que as abelhas e demais hymenoptera, comparativamente aos demais insetos, têm um perfil metabólico específico com um menor número de enzimas detoxificantes (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA, 2012).

Os valores do Quociente de Risco obtidos para a abamectina e para o imidacloprido revelaram que, em geral, a abamectina apresentou risco aceitável, nas doses recomendadas em campo (apresentadas na tabela 9) para os cultivos avaliados, enquanto que o imidacloprido, para os mesmos cultivos, superou o valor de gatilho e indicou a necessidade de avançar para outros níveis da avaliação de risco.

Nesse contexto, é importante discutir o fator de extrapolação de 10 aplicado aos endpoints de *M. scutellaris*, que se refere à sensibilidade das abelhas nativas que é dez vezes menos que a do gênero *Apis*, que ainda é um valor a ser aprimorado. Apesar da alta variabilidade observada por Arena e Sgolastra (2014) entre diferentes espécies de abelhas, há também um número expressivo de casos em que a relação de sensibilidade da abelha *Apis* com outras espécies nativas ou não *Apis* foi inferior a 10, o que indica que são necessários estudos adicionais sobre a sensibilidade das abelhas nativas e suas rotas de exposição para confirmar ou não o uso desse fator. Estudos que objetivam validar metodologias padronizadas para outras realidades ambientais complementam a noção de que as abelhas nativas podem ser modelos mais adequados para avaliação de risco de agrotóxicos na região Neotropical (TOMÉ et al., 2017), pois são predominantes nessas áreas e são mais suscetíveis à exposição do que as abelhas *Apis*.

Como evidências ao redor do mundo indicam um declínio populacional das *Apis mellifera* e, certamente este declínio ocorre entre as abelhas nativas, apesar da carência de estudos de monitoramento populacional, estudos sobre os fatores que levam a essa diminuição são estratégicos devido à importância do serviço ecossistêmico das abelhas nas esferas

econômica e ecológica – ou seja, seu papel na manutenção da biodiversidade e produção de frutos e semente será diretamente afetado pelo declínio destes insetos. Se parte deste declínio tem como causa o uso indiscriminado de agrotóxicos, estudos científicos que corroboram os efeitos letais e subletais destes produtos são necessários e altamente convenientes para o bem estar das sociedades humanas. Neste caso, o desenvolvimento de protocolos de avaliação de risco deve ser aprimorado no sentido de detectar com maior precisão, o risco ecológico que diferentes espécies de abelhas estão submetidas frente ao uso de agrotóxicos.

Há necessidade de definir novos indicadores de avaliação de toxicidade nos protocolos internacionais que abranjam a sensibilidade de outras espécies de abelhas além da *Apis*, sendo que estas lacunas já estão sendo consideradas e estudadas e os indicadores já estão sendo definidos no formato de protocolos, como os que existem para a abelha *Bombus spp* e abelhas solitárias (EFSA, 2013). Para que a sensibilidade da *M. scutellaris* seja atestada para outros agrotóxicos e até mesmo para validar os riscos da abamectina e imidacloprido, novos estudos devem ser realizados para direcionar uma nova frente metodológica de avaliação toxicológica para os agrotóxicos utilizando as abelhas nativas, incluindo a *M. scutellaris*.

6 CONCLUSÃO

O consumo médio diário da sacarose permitiu determinar qual concentração da solução levou a mortalidade de 50% dos organismos expostos à abamectina, da mesma forma que entre as concentrações testadas não foi observado efeito de repelência da abelha a abamectina, validando a DL_{50} obtida. Para o imidacloprido foi considerado o consumo em 24h durante os bioensaios, o que também permitiu conhecer a concentração letal e a dose letal para este agrotóxico.

A DL_{50} mostrou que o imidacloprido em 48 e 72 h de exposição foi 10 vezes mais tóxico para *M. scutellaris* que a abamectina. Os resultados obtidos do imidacloprido como padrão analítico e como produto comercial mostraram que o produto comercial foi mais tóxico que o padrão analítico, provavelmente pela ação conjunta dos outros ingredientes existentes no produto.

Com relação aos QRs, a abamectina apresentou risco aceitável, nas doses recomendadas em campo para os cultivos avaliados, caso o produtor siga o modo de preparo e concentrações para a lavoura, enquanto que o imidacloprido, para os mesmos cultivos, o valor superou o gatilho, necessitando de um aprofundamento dos estudos.

De todo o exposto neste trabalho, pode dizer que o objetivo apontado foi alcançado, lançando novas informações relativas à sensibilidade da *M. scutellaris* aos agrotóxicos. Sugere-se, no entanto, ampliar os estudos de toxicidade com espécies nativas dado os resultados conseguidos nesta pesquisa e frente à sua variação de sensibilidade destacada por outros autores e outras pesquisas, quando comparada com a espécie exótica africanizada. Estudos que venham garantir que a espécie de abelha estudada realmente representa a sensibilidade dos diferentes grupos existentes, especialmente os nativos, e que ofereça cenários de avaliação de risco reais para estes insetos, são de fundamental interesse para a construção de políticas públicas voltadas para a conservação das espécies e para a manutenção dos serviços ecossistêmicos de polinização.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ. Disponível em:<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/kraft36ec250418.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2019a.

_____. Disponível em:<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/imidacloprid_nortox.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2019b.

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. Disponível em:<<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fohgb6co02wyiv8065610dc2ls9ti.html>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Imidacloprido**. 2007. Disponível em:<[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[17410-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[17410-1-0].PDF)>. Acesso em: 26 jun. 2019.

_____. **Índice monográfico** - abamectina. Disponível em:<<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/A18%2B%2BAbamectina.pdf/77bf0354-9d40-40a2-bc14-4c6159385604>>. Acesso em: 20 jul. 2019a.

_____. **Índice monográfico** - imidacloprido. Disponível em:<<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/I13%2B%2BImidacloprido.pdf/9d08c7e5-8979-4ee9-b76c-1092899514d7>>. Acesso em: 20 jul. 2019b.

ALAUX, C.; BRUNET, J.; DUSSAUBAT, C.; TCHAMITCHAN, S.; COUSIN, M.; BRILLARD, J. BALDY, A.; BELZUNVES, L. P. CONTE, Y. LE. **Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*)**. Environmental Microbiology, v.12, n.3, p.774-782, Mar. 2010.

ALEIXO, K. P.; CLAUDIA, S.; NUNES-SILVA, B.; FREITAS, B.; IMPERATRIZ – FONSECA, V.L. **Guia ilustrado de abelhas polinizadoras no Brasil**. São Paulo:IEA/USP, 2014.

ALLEN-WARDELL, G.; BITNER, R.; BURQUEZ, A.; BUCHMANN, T.; CANE, J.; COX, P. A.; FEINSINGER, P.; INGRAM, M.; INOUE, D. JONES, C. E. KENNEDY, K. KEVAN, P.; KOPOWITZ, H; MEDELLIN, R.; MEDELLIN-MORALES, S.; PAVLIK, B. TEPEDINO, V.; TORCHIO, P.; WALKER, S. **The Potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields**. Conservation Biology, v.12, n.1, p.8-17, Feb. 1998.

ALMEIDA, M. G. **Ciclo de vida da abelha *Melipona scutellaris* em condições semi-artificiais**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 3., 1974, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ/USP, 1975.p.171-178.

ALVES, R. M. O. et al. **Areas of natural occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the state of Bahia, Brazil**. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.84, n.3, p.679-688, Sept.2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652012000300010>.

ARENA, M.; SGOLASTRA, F. **A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides**. Ecotoxicology (London, England). 23. 10.1007/s10646-014-1190-1. 2014

ASHBURNER, M. The Effects of heat shock and other stress on gene activity: an introduction. In: SCHLESINGER, M.J.; ASHBURNER, M.; TISSIÉRES, A. (Ed.). **Heat shock proteins: from bacteria to human**. New York: Spring Harbor Laboratory, 1982. p.1-9.

ATTENCIA, V. M.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C.; TOLEDO, V.A.A. **Esterase activity in *Apis mellifera* after exposure to organosphosphate insecticides** (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v.45, n.3, p.587-595, 2005.

BARBOSA, W. F.; MEYER, L. DE.; GUEDES, R. N. C.; SMAGG, G. **Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae)**. Ecotoxicology, v.24, n.1, p.130-142, Jan. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-014-1365-9>.

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

BARNETT, E. A.; CHARLTON, E. J.; FLETCHER, M.R. **Incidents of bee poisoning with pesticides in the United Kingdom, 1989-2003**. Pest Management Science, Sussex, v.63, n.11, p.1051–1057, Nov. 2007.

BELCHIOR, D. C. V.; SARAIVA, A. S. S.; LÓPEZ, A. M. C.; SCHEIDT, G. N. **Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana**. Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v.34, n.1, p.135-151, jan./abr, 2014.

BIESMEIJER, J. C.; SLAA, E. J. **Information flow organization of stingless bee foraging**. Apidologie, v.35, n.2, p.143-157, Mar./Apr.2004.

BORTOLLI, L.; MONTANARI, R.; MARCELINO, J.; MEDRZYCKI, P.; MAINI, S.; PORRINI, C. Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. Bulletin of Insectology, Bologna, v.56, n.1, p.63–67, 2003.

BRASIL. **Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33864/284972/lei_6360.pdf/5330c06d-1c17-4e1e-8d21-d7e3db4d3ce4>. Acesso em: 26 jun. 2019.

_____. **Lei nº 7.802, de 11 julho de 1989**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.html>. Acesso em: 20 jun. 2019.

BRIGANTE, J. Arquivo Pessoal. 2017.

BRIGGS, D.; WALTER, B.M. **Plant variation and evolution**. England: Cambridge University Press, 1997.

BUCHMANN, S. E. Buzz pollination in angiosperms. In: JONES, C.E.; LITTLE, R.J. (Ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p.73-113.

BULL, D.; HATHAWAY, D. **Pragas e venenos: agrotóxicos no Brasil e no Terceiro Mundo**. Petrópolis: Vozes/OXFAM/FASE, 1986.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and abamectin**. New York: Springer Verlag, 1989.

CAMPOS, L. A. O. et al. **Abelhas – características e importância**. Informe Agropecuário, v.13, n.149, p.7-14, 1987.

CARVALHO, S. M. et al. **Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae)**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.76, n.4, p.597–606, out./dez. 2009.

CARVALHO-ZILSE, G. et al. **Atividades de vôo de operárias de *Melipona seminigra* (Hymenoptera: Apidae) em um sistema agroflorestal da Amazônia**. Bioscience Journal, Uberlândia, v.23, Supplement 1, p. 94-99, 2007.

CAVALCANTE, V.M.; OLIVEIRA, V. T. P.; CRUZLANDIM, C. **Comparative study of wax glands in four Meliponini bees (Hymenoptera, Apidae) producing different quantities of wax**. Iheringia: série zoológica, Porto Alegre, v.89, p.193-198, 2000.

CHAM, K.O. et al. **Manual de avaliação de risco ambiental de agrotóxicos para abelhas**. Brasília: Ibama/Diqua, 2007.

CORBY-HARRIS; V., L. SNYDER; C. A. D. MEADOR; R. NALDO; B. MOTT; K. E. ANDERSON. 2016. **Parasaccharibacter apium, gen. nov., sp. nov., improves honey bee (Hymenoptera: Apidae) resistance to Nosema**. Journal of Economic Entomology, 1, 1-7.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D. S. **Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action des miels d'abellies africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinés du Brésil**. Apidologie, v.22, p.61-73, 1991.

COSTA, L. M. et al. **Determination of acute lethal doses (LD₅₀ and LC₅₀) of imidacloprid for the native bee *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae)**. Sociobiology, v.62, p.578-582, 2016.

CRANE, E.O **O Livro do mel**. São Paulo: Nobel, 1985.

CRUZ, A. S. et al. **Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee**. Cell Biology and Toxicology, Dordrecht, v.26, n.2, p.165-176, 2009.

DAILY, G. C. **Nature's services: societal dependence on natural ecosystems**. Washington: Island Press, 1997.

DAUTERMAN, W.C. Metabolism of toxicants: phase II reactions. In:HODGSON E.; LEVI P.E. (Ed.). **Introduction to biochemical toxicology**. Norwalk: Appleton and Lange,1994. p.5-20.

DECOURTYE, A.; LACASSIE, E.; PHAM-DELEGUE, M.H. **Learning performances of honeybees (*Apis mellifera*) are differentially affected by imidaclopride according to the season**. *Pest Management Science*, Sussex, v.59, n.3, p.269-278, 2003.

DECOURTYE, A. et al. **Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.)**. *Pesticide of biochemistry physiology*, San Diego, v.78, p.83-92, 2004.

_____. **Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybees *Apis mellifera***. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, New York, v.48, p.242-250, 2005.

DEL SARTO, M. C. L. **Toxicidade de inseticidas para abelhas *Melipona quadrifasciata* e *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**.2009. 75 f.Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

DEL SARTO, M. C. L. et al. **Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera***. *Apidologie*, v.45, p.626-636, 2014. Disponível em:<https://www.fmcagricola.com.br/bula_geraPDF.aspx?cod=285>. Acesso em: 20 jul. 2019.

DRAFT ASSESSMENT REPORT. 2006. Disponível em:<<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/vsdb/Reports/8.htm>>. Acesso em: 11 set. 2019.

DUCKE, A. 1925. **Plantes nouvelles ou peu connues de la région amazonienne III**. *Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro* 4: 1-208.

ELBERT, A. et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v.64, p.1099–1105, 2008.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **Painel on Plant Protection Products and their Residues. Scientific opinion on the science behind the development of a risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees)**. *EFSA Journal*, v.10, n.5, 2012. DOI:10.2903/j.efsa.2012.2668.

_____. **Guidance document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees)**. *EFSA Journal*, v.11, n.7, 2013. DOI:10.2903/j.efsa.2013.3295.

FELTON, J. C.; OOMEN, P. A.; STEVENSON, J. H. **Toxicity and hazard of pesticides to honeybees: harmonization of test methods**. *Bee World*, v.67, p.114-124, 1986.

FERREIRA, R. A. C. **Análise morfológica e histoquímica do corpo gorduroso e dos túbulos de Malpighi de operárias adultas de *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) (Hymenoptera, Apidae) tratadas com fipronil e ácido bórico**. 2010. 83

f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2010.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. **The Chemistry and pharmacology of avermectinas**. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, v.32, p.537-553, 1992.

FREE, J. B. **A Organização social das abelhas (*Apis*)**. São Paulo: EPU/EDUSP, 1980. (Temas de Biologia, 13).

FREITAS, B. M. **Meliponíneos**. 2003. Disponível em: <<http://www.abelhas.ufc.br/documentos/meliponineos.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

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

FREITAS, G. S. **Levantamento de ninhos de meliponíneos (Hymenoptera, Apidae) em área urbana: campus da USP, Ribeirão Preto/SP**. 2001. 81 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2001.

GASTAUER, M.; CAMPOS, L. A. O.; WITTMANN, D. **Handling sticky resin by stingless bees (Hymenoptera, Apidae)**. Revista Brasileira de Entomologia, v.55, n.2, p.234-240, 2011.

GODFRAY, H. C. J. et al. **A Restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators**. Proceedings of Royal Society B: biological science, v.281, n.1786, 2014. DOI: 10.1098/rspb.2014.0558.

GUIMARÃES, R. A. **Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) visitantes das flores de goiaba (*Psidium guajava* L.), laranja (*Citrus sinensis* L.) e tangerina (*Citrus reticulata* B.) em pomares comerciais em Salinas – MG**. 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2006.

HANLON, S. M.; RELYEA, R. **Sublethal effects of pesticides on predator-prey interactions in amphibians**. Copeia, v.4, p.691-698, 2013.

HEARD, T. **The Role of stingless bees in crop pollination**. Annual Review of Entomology, v.44, p.183-206, 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização**. 2004. Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/vinces/logo/vera.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2019.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; RAMALHO, M.; KLEINERT, A.M.P. **Abelhas sociais e flores: análise polínica como método de estudo**. In: PIRANI, J.R.; CORTOPASSI-LAURINO, M. (Coord.). **Flores e abelhas em São Paulo**. São Paulo: EDUSP; FAPESP, 1993. Cap.1, p.17-30.

JESUS, D. et al. **Epithelial renewal in the midgut of *Apis mellifera* after treatment with boric acid.**In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROSCOPIA E MICROANÁLISE, 21.,2007, Búzios. Anais...Búzios: Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 2007.

JOHNSON, F. M. et al. **Mediation of pyrethroid insecticide toxicity to honey bees (Hymenoptera: Apidae) by cytochrome P450 monooxygenases.** Journal of Economic Entomology, College Park, v.99, n.4, p.1.046-1.050, 2006.

KEARNS, C. A.; INOUE, D.W.; WASER, N.M. **Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions.** Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, v.29, p.83-112, 1998.

KERR, W. E.; CARVALHO, G.A.; NASCIMENTO, V.A. **Abelha Uruçú – biologia, manejo e conservação.**Belo Horizonte: Fundação Acangaú, 1996.

KEVAN, P. G.; VIANA, B. F. **The Global decline of pollination services.**Tropical Conservancy, v.4, n.4, p.3-8, 2003.

KOVGANKO, N. V.; KASHKAN, Z. N. **Advances in the synthesis of neonicotinoids.**Russian Journal of Organic Chemistry, v.40, n.12, p.1709–1726, 2004.

KREMEN, C. Pollination services and community composition: does it depend on diversity, abundance, biomass or species traits?.In: FREITAS, B.M.; PORTELA, J.O.B.(Ed.).**Solitary bees:conservation, rearing and management for pollination.**Fortaleza:Universidade Federal do Ceará, 2004.p.115-124.

LAMARTINE, H. **A Área da abelha uruçú no Nordeste.** Chácaras e Quintais, v.106, n.6, p.801, 1962.

LAMBIN, M. et al. **Imidacloprid induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee.** Archives of Insect Biochemistry and Physiology, New York, v.48, p.129-134, 2001.

LANKAS, G. R.; GORDON, L. R. Toxicology. In: CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and abamectin.** New York: Springer Verlag, 1989. p.89-112.

LIMA, M. C.; ROCHA, S.A.**Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento.**Brasília: Ibama, 2012.

LINDAUER, M.; KERR, W. E. **Communication between the workers of stingless bees.** Bee World, v.41, n.2, p.29-41, 1960.

MALASPINA, O.; SOUZA, T. F. Reflexos das aplicações de agrotóxicos nos campos de cultivo para a apicultura brasileira.In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 17./CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 3., 2008, Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte: CBA, 2008.1 CD-ROM.

MALASPINA, O. et al. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil.In:ENCONTRO SOBRE ABELHAS: biodiversidade e uso sustentado de abelhas, 8., 2008, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: FUNPEC, 2008. p.41-48.

_____. Defesa de apiários e meliponários contra agrotóxicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 18./ CONGRESSO DE MELIPONICULTURA, 4., 2010, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: CBA, 2010. 1 CD-ROM.

MARIANO-FILHO, J. **Ensaio sobre meliponas do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora do Autor, 1911.

MARTINS, E. L. **Previsão da lixiviação de agrotóxicos utilizados na cultura de algodão em Mato Grosso**. 2006. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá. 2006.

MATIAS, R. S. **Como agem os inseticidas**. Disponível em: <<http://www.ifcursos.com.br/sistema/admin/arquivos/17-38-11c0m0agem0sinseticidasn0sinset0s.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2019.

MICHENER, C. D. **The Social behavior of bees: a comparative study**. Cambridge: The Blacknap, 1974.

MICHENER, C. D.; GRIMALDI, D. A. **A Trigona from late cretaceous amber of New Jersey (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae)**. American Museum Novitates, n.2917, p.1-10, May 1988.

MONTEIRO, W. R. **Meliponicultura: criação de abelhas sem ferrão**. Mensagem Doce, n.46, maio, 1998.

MUSSEN, E. C. **Honey bees and agricultural sprays**. Oakland: Extension Apiculturist, University California Davis, 1996.

NABHAN, G. P.; BUCHMANN, S. **Services provided by pollinators**. In: DAILY, G.C.(Ed.). *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Washington: Island Press, 1997. p.133-150.

NAUEN, R.; BRETSCHEIDER, T. **New modes of action of insecticides**. Pesticide Outlook, v.13, p.241-245, 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/B211171N>.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SCHMUCK, R. **Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. Pest Management Science, Sussex, v.57, p.577-586, July 2001.

NOGUEIRA-COUTO, R. H. **Polinização com abelhas africanizadas**. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 1994, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: FFCL, 1994. p.101-117.

NOGUEIRA-NETO, P. **A Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Tecnapis, 1970.

_____. **Vida e criação de abelha sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 1997.

OLIVEIRA, M. H. C. C. et al. **Criação e preservação da abelha *Melipona scutellaris* Latreille, 1811, no Nordeste Brasileiro**. Cadernos Omega, v.2, p.195-211, 1986.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília:Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância Sanitária; Organização Pan-americana da Saúde, 1996.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT.**Guidelines for the testing of chemicals number 213, honeybees, acute oral toxicity test**. Paris: OEC; Environmental Health ADN Safety Division, 1998.

PACÍFICO DA SILVA, I.; MELO, M. M.; SOTO-BLANCO, B. Efeitos tóxicos dos praguicidas para abelhas. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.1, p.142-157, 2016.

PASCHOAL, A.D. **Pragas, praguicidas e a crise ambiental: problemas e soluções**.Rio de Janeiro: Ed.FGV, 1979.

PEREIRA, F. M. **Abelhas sem ferrão, a importância da preservação**.2005.Disponível em:<http://www.embrapa.br/noticias/artigos/folder.2005-02-02.1550581232/artigo.2005-12-29.3499364899/mostra_artigo. 20 outubro 2006>. Acesso em: 20 jun. 2019.

PERES, F. **É veneno ou é remédio? Os desafios da comunicação rural sobre agrotóxicos**. 1999. Dissertação (Mestrado) - Escola Nacional de Saúde Pública, Fiocruz, Rio de Janeiro, 1999.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F.; MOREIRA, J. C. (Org.). **É veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente**.Rio de Janeiro: Ed.FIOCRUZ, 2003.p.21-41.

PETTIS, J. S.; VANENGELSDORO, D.; JOHNSON, J.; DIVELY, G. **Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen Nosema**. *Naturwissenschaften*, v.99, n.2, p.153-158, Feb. 2012.DOI: <https://doi.org/10.1007/s00114-011-0881-1>.

PINHEIRO, J. N.; FREITAS, B. M. **Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros**. *Oecologia Australis*, v.14, n.1, p.266-281, 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1401.16.

PIRANI, J. R.; CORTOPASSI-LAURINO, M. **Flores e abelhas em São Paulo**.São Paulo: Edusp/Fapesp, 1993.

PORRINI, C.; SABATINI, A.; GIROTTI, S.; GHINI, S.; MEDRZYCKI, P.; GRILLENZONI, F.; BORTOLOTTI, L. ;GATTAVECCHIA, E.;CELLI, G. **Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination**. *Apiacta*, v.38, p.63-70, 2003a.

PORRINI, C.; SABATINI, A.; GIROTTI, S.; FINI, F.; MONACO, L.; BORTOLOTTI, L.; GHINI, S. **The Death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators**.Bologna: Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università di Bologna, 2003b.

POSEY, D. A. **Keeping of stingless bees by the Kayapó Indians of Brazil.** Journal of Ethnobiology, v.3, n.1, p.63-73, 1983.

RAMALHO, M. **Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship.** Acta Botanica Brasilica, v.18, n.1, p.37-47, 2004.

ROAT, T. C. **Efeitos toxicológicos do inseticida fipronil em operárias e rainhas de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae):** atividade neural e proteínas de desintoxicação. São Paulo: FAPESP, 2010.

RORTAIS, A. et al. **Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees.** Apidologie, v.36, p.71-83, 2005.

ROSSI, C. A. **Efeitos das doses subletais do inseticida imidaclopride no cérebro de abelha *Apis mellifera* africanizada.** 2008. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

SAMPAIO, A.; CASTRO, M.S.; SILVA, F.O. **Uso da cera de abelhas pelos índios Pankararé no Raso da Catarina, Bahia, Brasil.** Arquivos do museu Nacional, Rio de Janeiro, v.67, n.1/2, p.3-12, jan./jun. 2009.

SCHMUCK, R.; NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U. **Effects of imidacloprid and common plant metabolites of imidacloprid in the honeybee: toxicological and biochemical considerations.** Bulletin of Insectology, Bologna, v.56, n.1, p.27-34, 2003.

SCHMUCK, R.; SCHÖNING.; STORK A. SCHRAMEL O. **Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers.** Pest Management Science, Sussex, v.57, p.225-238, Sept.2001.

SCHWARZ, H. F. **The Genus *Melipona*.** Bulletin of the American Museum of Natural History, v.63, p.402-403, 1932.

_____. **Stingless bees of the Western Hemisphere.** Bulletin of the American Museum of Natural History, v.90, p.545, 1948.

SILVEIRA, F. A. A Importância da palinologia nos estudos apícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina. **Anais...** Teresina: Confederação Brasileira de Apicultura, 1996. p.266-273.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação.** Belo Horizonte: IDM, 2002.

SOARES, H. M. **Avaliação dos efeitos de imidaclopride, sobre o sistema nervoso de *Apis mellifera* africanizada, através da expressão da proteína fos.** 2009. 46 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Rio Claro, 2009.

_____. **Avaliação dos efeitos do inseticida imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** 2012.87 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2012.

SOUZA, R.C. et al. **Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica.** Acta Amazonica, v.34, n.2, p.333–336, 2004.

SOUZA, T.F. **Efeitos das doses subletais do fipronil para abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) por meio de análises morfológicas e comportamentais.** 2009. 49 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Rio Claro, 2009.

SUCHAIL, S.; DEBRAUWER, L.; BELZUNCES, L.P. **Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*.** Pest Management Science, Sussex, v.60, n.3, p.291-296, Mar.2004.

TAN, K.; CHEN, W.; DONG, S.; LIU, X.; YUCHONG, W.; NIEH; J. **Imidacloprid alters foraging and decreases bee avoidance of predators.** PLoS ONE, v.9, n.7, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102725>.

TEETERS, B. et al. **Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.).** Environmental Toxicology and Chemistry, v.31, n.6, p.1449-1354, June 2012. DOI: 10.1002/etc.1830.

THOMPSON, H.; WILKINS, S. **Assessment of the synergy and repellency of pyrethroid/fungicide mixtures.** Bulletin of Insectology, v.56, n.1, p.131-134, 2003.

TILMAN, D. et al. **Agricultural sustainability and intensive production practices.** Nature, v.418, p.671-677, 2002.

TOMÉ, H. V.; RAMOS, G. S.; ARAÚJO, M. F.; SANTANA, W. C.; SANTOS, G. R.; GUEDES, R. N.; MACIEL, C. D.; NEWLAND, P. L.; OLIVEIRA, E.E. **Agrochemical synergism imposes higher risk to Neotropical bees than to honeybees.** R Soc Open Sci. 2017. doi: 10.1098/rsos.160866. PMID: 28280585.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J.E. **Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors.** Annual Review of Entomology, v.48, p.339-364, 2003.

_____. **Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action.** Annual Review of Pharmacology and Toxicology, v.45, p.247–68, 2005.

_____. **Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: the determinants of life or death.** Accounts of Chemical Research, v.42, p.260-269, 2008.

VANDERLEI, M. R. **Efeitos dos agrotóxicos Kraft®36EC e Score®250EC (e seus princípios ativos) em ecossistemas aquáticos: análises comparativas e ecossistêmicas.** 2015. 194 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

VASCONCELOS, S. **Zoologia dos invertebrados superiores classe insecta**. Disponível em: <<https://www.ufpe.br/entomologia/insecta.htm>>. Acesso em: 28 jun. 2019.

VETERINARY SUBSTANCES DATABASE. Disponível em <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/projects/vsdb/index.htm>>. Acesso em: 28 set. 2019.

VIANA, B. F. **Aspectos morfológicos**. Disponível em: <<http://www.qualibio.ufba.br/txt063.html> ano1998>. Acesso em: 28 jun. 2019.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual tecnológico: mel de abelhas sem ferrão**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012.

VON IHERING, H. **Biologia das abelhas melíferas do Brasil**. Boletim Agrícola da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, v.31, n.5/8, p.435-506, 649-714, 1930. Tradução de R.Von Ihering e B.Correia de Sampaio, publicado em 1903.

WESTERKAMP, C.; GOTTSBERGER, G. The Costly crop pollination crisis. In: KEVAN, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. (Ed.). **Pollinating bees – the conservation link between agriculture and nature**. Brasília: MMA, 2002. p.51-56.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Public health impact of pesticides used in agriculture**. Genebra: WHO, 1990.

YAMAMOTO, Y. et al. **Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids**. Journal Pesticide Science, v.20, n.1, p.33-40, 1995.

_____. **Structural factors contributing to insecticidal and selective actions of neonicotinoids**. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, v.37, n.1, p.24–32, 1998.

ZAMBRONE, F.A.D. **Perigosa família**. Ciência Hoje, Rio de Janeiro, v.4, n.22, p.44-47, jan./fev. 1986.

ANEXO

Análise de Variância e Regressão Não Linear dos Dados de Mortalidade

ABAMECTINA

Anova e Regressão Não Linear

ANOVA – 48h

One Way Analysis of Variance

quinta-feira, junho 06, 2019, 21:29:57

Data source: Oral 48 kra uni uruçú in Notebook1

Dependent Variable: Mortalidade

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Equal Variance Test: Passed (P = 1,000)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
CO	3	0	0,667	0,577	0,333
C1	3	0	0,333	0,577	0,333
C2	3	0	1,000	0,000	0,000
C3	3	0	2,667	2,082	1,202
C4	3	0	6,000	0,000	0,000
C5	3	0	5,333	0,577	0,333
C6	3	0	7,667	0,577	0,333

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	6	155,619	25,937	32,039	<0,001
Residual	14	11,333	0,810		
Total	20	166,952			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnnett's Method) :

Comparisons for factor: **conc**

Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050
CO vs. C6	7,000	9,529	--	Yes
CO vs. C4	5,333	7,260	--	Yes
CO vs. C5	4,667	6,352	--	Yes
CO vs. C3	2,000	2,722	--	No
CO vs. C2	0,333	0,454	--	Do Not Test
CO vs. C1	0,333	0,454	--	Do Not Test

Equal Variance Test: Passed (P = 1,000)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
CO	3	0	0,333	0,577	0,333
C1	3	0	2,000	2,000	1,155
C2	3	0	1,667	1,155	0,667
C3	3	0	7,333	0,577	0,333
C4	3	0	8,333	1,155	0,667
C5	3	0	9,333	0,577	0,333
C6	3	0	9,667	0,577	0,333

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	6	291,238	48,540	42,472	<0,001
Residual	14	16,000	1,143		
Total	20	307,238			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnett's Method) :

Comparisons for factor: **conc**

Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050
CO vs. C6	9,333	10,693 --	Yes	
CO vs. C5	9,000	10,311 --	Yes	
CO vs. C4	8,000	9,165 --	Yes	
CO vs. C3	7,000	8,020 --	Yes	
CO vs. C1	1,667	1,909 --	No	
CO vs. C2	1,333	1,528 --	Do Not Test	

REGRESSÃO NÃO LINEAR – 72h

quinta-feira, junho 06, 2019, 21:33:05

Data Source: Oral 72 kra uni uruçú in Notebook1

Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter

$$f = a / (1 + \exp(-(x - x_0) / b))$$

R **Rsqr** **Adj Rsqr** **Standard Error of Estimate**
 0,9648 0,9308 0,9231 1,0866

	Coefficient	Std. Error	t	P
a	9,1356	0,3673	24,8732	<0,0001
b	0,0009	0,0002	5,4861	<0,0001
x0	0,0022	0,0003	7,8395	<0,0001

Analysis of Variance:

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS
Regression	3	926,7490	308,9163
Residual	18	21,2510	1,1806
Total	21	948,0000	45,1429

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	285,9871	142,9935	121,1183	<0,0001
Residual	18	21,2510	1,1806		
Total	20	307,2381	15,3619		

Statistical Tests:

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,3373)

W Statistic= 0,9498 Significance Level = <0,0001

Constant Variance Test Passed (P = 0,2275)

Number of Iterations Performed = 6

IMIDACLOPRIDO (i. a.)

Anova e Regressão Não Linear

ANOVA - 24h

One Way Analysis of Variance

sábado, julho 06, 2019, 18:00:04

Data source: Data 2 in Notebook1

Dependent Variable: Mort

Normality Test: Passed(P = 0,058)

Equal Variance Test: Passed (P = 0,431)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Co	3	0	0,000	0,000	0,000
g	3	0	0,000	0,000	0,000
f	3	0	0,000	0,000	0,000
e	3	0	3,333	3,215	1,856
d	3	0	6,000	4,583	2,646
c	3	0	10,333	8,505	4,910
b	3	0	11,667	5,859	3,383

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
----------------------------	-----------	-----------	-----------	----------	----------

Between Groups	6	449,238	74,873	3,798	0,019
Residual	14	276,000	19,714		
Total	20	725,238			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0,019).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,696

Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnett's Method) :

Comparisons for factor: **conc**

Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050
Co vs. b	11,667	3,218	--	Yes
Co vs. c	10,333	2,850	--	No
Co vs. d	6,000	1,655	--	Do Not Test
Co vs. e	3,333	0,919	--	Do Not Test
Co vs. g	0,000	0,000	--	Do Not Test
Co vs. f	0,000	0,000	--	Do Not Test

Note: The P values for Dunnett's and Duncan's tests are currently unavailable except for reporting that the P's are greater or less than the critical values of .05 and .01.

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

REGRESSÃO NÃO LINEAR -24h

Nonlinear Regression

sábado, julho 06, 2019, 18:00:33

Data Source: Data 2 in Notebook1

Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter

$$f = a / (1 + \exp(-(x - x_0) / b))$$

R Rsqr Adj Rsqr Standard Error of Estimate

0,7742 0,5994 0,5549 4,0176

Coefficient

Std. Error t

P

a 11,0380 1,6911 6,5270 <0,0001

b 0,0004 0,0003 1,5703 0,1338
x0 0,0011 0,0003 3,3832 0,0033

Analysis of Variance:

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS
Regression	3	855,4588	285,1529
Residual	18	290,5412	16,1412
Total	21	1146,0000	54,5714

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	434,6969	217,3484	13,4655	0,0003
Residual	18	290,5412	16,1412		
Total	20	725,2381	36,2619		

Statistical Tests:

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,0187)

W Statistic= 0,8857 Significance Level = <0,0001

Constant Variance Test Passed (P = <0,0001)

Fit Equation Description:

```
[Variables]
x = col(2)
y = col(3)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
sup(q)=if(mean(q)>=0; max(q); min(q))
b1(q;r)=if(sup(r)>0; xwtr(q;r,,5)/4; -xwtr(q;r,,5)/4)
[Parameters]
a = sup(y) "Auto {{previous: 11,038}}
b = if(b1(x;y)=0; 1; b1(x;y)) "Auto {{previous: 0,000399462}}
x0 = x50(x;y,,5) "Auto {{previous: 0,00114752}}
[Equation]
f= a/(1+exp(-(x-x0)/b))
fit f to y
"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=1
iterations=200
```

Number of Iterations Performed = 8

ANOVA - 48h

One Way Analysis of Variance

sábado, julho 06, 2019, 18:06:51

Data source: Data 3 in Notebook1

Dependent Variable: Mort

Normality Test: Passed(P = 0,388)

Equal Variance Test: Passed (P = 0,438)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Co	3	0	0,000	0,000	0,000
g	3	0	0,000	0,000	0,000
f	3	0	4,333	4,509	2,603
e	3	0	7,667	2,517	1,453
d	3	0	9,000	3,000	1,732
c	3	0	11,667	6,658	3,844
b	3	0	12,667	4,163	2,404

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	6	484,571	80,762	5,808	0,003
Residual	14	194,667	13,905		
Total	20	679,238			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0,003).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,926

Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnett's Method) :

Comparisons for factor: **conc**

Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050
Co vs. b	12,667 4,160	--	Yes	
Co vs. c	11,667 3,832	--	Yes	
Co vs. d	9,000 2,956	--	Yes	
Co vs. e	7,667 2,518	--	No	
Co vs. f	4,333 1,423	--	Do Not Test	
Co vs. g	0,000 0,000	--	Do Not Test	

Note: The P values for Dunnett's and Duncan's tests are currently unavailable except for reporting that the P's are greater or less than the critical values of .05 and .01.

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1).

Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

REGRESSÃO NÃO LINEAR - 48h

Nonlinear Regression

sábado, julho 06, 2019, 18:07:13

Data Source: Data 3 in Notebook1

Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter

$f = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$

R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate
0,8112	0,6581	0,6201	3,5920

	Coefficient	Std. Error	t	P
a	11,0685	1,2031	9,1999	<0,0001
b	0,0001	7,1737E-005	1,9730	0,0641
x0	0,0004	0,0001	3,5266	0,0024

Analysis of Variance:

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS
Regression	3	1327,7515	442,5838
Residual	18	232,2485	12,9027
Total	21	1560,0000	74,2857

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	446,9896	223,4948	17,3216	<0,0001
Residual	18	232,2485	12,9027		
Total	20	679,2381	33,9619		

Statistical Tests:

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,1163)

W Statistic= 0,9263 Significance Level = <0,0001

Constant Variance Test Passed (P = 0,0068)

Fit Equation Description:

[Variables]

x = col(2)

```

y = col(3)
reciprocal_y = 1/abs(y)
reciprocal_ysquare = 1/y^2
'Automatic Initial Parameter Estimate Functions
sup(q)=if(mean(q)>=0; max(q); min(q))
b1(q;r)=if(sup(r)>0; xwtr(q;r;,5)/4; -xwtr(q;r;,5)/4)
[Parameters]
a = sup(y) "Auto {{previous: 11,0685}}
b = if(b1(x;y)=0; 1; b1(x;y)) "Auto {{previous: 0,000141537}}
x0 = x50(x;y;,5) "Auto {{previous: 0,000358579}}
[Equation]
f= a/(1+exp(-(x-x0)/b))
fit f to y
"fit f to y with weight reciprocal_y
"fit f to y with weight reciprocal_ysquare
[Constraints]
[Options]
tolerance=1e-10
stepsize=1
iterations=200

```

Number of Iterations Performed = 10

ANOVA - 72h

One Way Analysis of Variance

sábado, julho 06, 2019, 18:10:37

Data source: Data 4 in Notebook1

Dependent Variable: Mort

Normality Test: Passed(P = 0,330)

Equal Variance Test: Passed (P = 0,794)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Co	3	0	0,000	0,000	0,000
g	3	0	1,667	1,528	0,882
f	3	0	7,667	6,658	3,844
e	3	0	10,000	0,000	0,000
d	3	0	9,000	3,000	1,732
c	3	0	12,667	5,508	3,180
b	3	0	13,667	2,517	1,453

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	6	488,571	81,429	6,173	0,002
Residual	14	184,667	13,190		
Total	20	673,238			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0,002).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,945

Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnett's Method) :

Comparisons for factor: **conc**

Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050
Co vs. b	13,667	4,609	--	Yes
Co vs. c	12,667	4,271	--	Yes
Co vs. e	10,000	3,372	--	Yes
Co vs. d	9,000	3,035	--	Yes
Co vs. f	7,667	2,585	--	No
Co vs. g	1,667	0,562	--	Do Not Test

Note: The P values for Dunnett's and Duncan's tests are currently unavailable except for reporting that the P's are greater or less than the critical values of .05 and .01.

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between two means that enclose that comparison. For example, if you had four means sorted in order, and found no difference between means 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed means is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the means, even though one may appear to exist.

REGRESSÃO NÃO LINEAR - 72h

Nonlinear Regression

sábado, julho 06, 2019, 18:11:01

Data Source: Data 4 in Notebook1

Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter

$$f = a / (1 + \exp(-(x - x_0) / b))$$

R Rsqr Adj Rsqr Standard Error of Estimate

0,8131 0,6611 0,6234 3,5604

	Coefficient	Std. Error	t	P
a	11,3348	1,0291	11,0147	<0,0001
b	4,4718E-005	2,8741E-005	1,5559	0,1371
x0	0,0002	3,4091E-005	4,8954	0,0001

Analysis of Variance:

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS
Regression	3	1725,8266	575,2755
Residual	18	228,1734	12,6763
Total	21	1954,0000	93,0476

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	445,0647	222,5323	17,5550	<0,0001
Residual	18	228,1734	12,6763		
Total	20	673,2381	33,6619		

Statistical Tests:

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,4483)

W Statistic= 0,9565 Significance Level = <0,0001

Constant Variance Test Passed (P = 0,0363)

Fit Equation Description:

[Variables]

x = col(2)

y = col(3)

reciprocal_y = 1/abs(y)

reciprocal_ysquare = 1/y^2

'Automatic Initial Parameter Estimate Functions

sup(q)=if(mean(q)>=0; max(q); min(q))

b1(q;r)=if(sup(r)>0; xwtr(q;r;,5)/4; -xwtr(q;r;,5)/4)

[Parameters]

a = sup(y) "Auto {{previous: 11,3348}}

b = if(b1(x;y)=0; 1; b1(x;y)) "Auto {{previous: 4,47178e-005}}

x0 = x50(x;y;,5) "Auto {{previous: 0,000166888}}

[Equation]

f= a/(1+exp(-(x-x0)/b))

fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal_y

"fit f to y with weight reciprocal_ysquare

[Constraints]

[Options]

tolerance=1e-10

stepsize=1

iterations=200

Number of Iterations Performed = 9

IMIDACLOPRIDO (p. c.)

Anova e Regressão Não Linear

ANOVA – 6h

One Way Analysis of Variance

domingo, junho 16, 2019, 17:15:52

Data source: Imida COMERCIAL 6h in Notebook_LUZ_Imida i a oral confirmar se é oral

Dependent Variable: Col 3

Normality Test: Passed(P = 0,872)

Equal Variance Test: Passed (P = 0,227)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
c0	3	0	1,333	1,528	0,882
c1	3	0	5,000	2,646	1,528
c2	3	0	5,000	4,000	2,309
c3	3	0	2,000	1,732	1,000
c4	3	0	4,000	4,583	2,646
c5	3	0	8,000	2,000	1,155
c6	3	0	6,333	3,512	2,028
c7	3	0	9,667	1,528	0,882
c8	3	0	8,667	2,082	1,202

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	8	200,000	25,000	3,111	0,022
Residual	18	144,667	8,037		
Total	26	344,667			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0,022).

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,659

Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnett's Method) :

Comparisons for factor: **Col 1**

Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050
c0 vs. c7	8,333	3,600	--	Yes
c0 vs. c8	7,333	3,168	--	Yes
c0 vs. c5	6,667	2,880	--	No
c0 vs. c6	5,000	2,160	--	Do Not Test
c0 vs. c2	3,667	1,584	--	Do Not Test
c0 vs. c1	3,667	1,584	--	Do Not Test
c0 vs. c4	2,667	1,152	--	Do Not Test
c0 vs. c3	0,667	0,288	--	Do Not Test

REGRESSÃO NÃO LINEAR – 6h

Nonlinear Regression

domingo, junho 16, 2019, 17:16:43

Data Source: Imida COMERCIAL 6h in Notebook_LUZ_Imida i a oral confirmar se é oral

Equation: Sigmoidal; Sigmoid, 3 Parameter

$$f = a / (1 + \exp(-(x - x_0) / b))$$

R Rsqr Adj Rsqr Standard Error of Estimate

0,6499 0,4224 0,3742 2,8802

	Coefficient		Std. Error	t	P
a	9,1992	1,2516	7,3501	<0,0001	
b	0,0050	0,0026	1,9145	0,0676	
x0	0,0039	0,0022	1,7856	0,0868	

Analysis of Variance:

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS
Regression	3	978,9119	326,3040
Residual	24	199,0881	8,2953
Total	27	1178,0000	43,6296

Corrected for the mean of the observations:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	145,5785	72,7893	8,7747	0,0014
Residual	24	199,0881	8,2953		
Total	26	344,6667	13,2564		

Statistical Tests:

Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,6386)

W Statistic= 0,9714 Significance Level = <0,0001

Constant Variance Test Passed (P = 0,5691)

Number of Iterations Performed = 7