



Toxicidade de produtos comerciais a base de *Azadirachta indica* em *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae)

Toxicity of Commercial Products Based on *Azadirachta indica* on *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae)

Cynthia Maria de Lyra Neves⁽¹⁾; Baden Bell Pereira Brito⁽²⁾; Geni da Silva Sodré⁽³⁾; Jossimara Neiva de Jesus⁽⁴⁾; Generosa Sousa Ribeiro⁽⁵⁾; Cândida Maria Lima Aguiar⁽⁶⁾; Carlos Alfredo Lopes de Carvalho⁽⁷⁾

⁽¹⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3375-5146>, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Bióloga/Professor Substituto, BRAZIL, E-mail: cynthialneves@gmail.com

⁽²⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4461-2546>, Serviço de Assessoria a Organizações Populares (SASOP), Engenheiro Agrônomo/MSc. em Ciência Animal, BRAZIL, E-mail: badenbell@hotmail.com

⁽³⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6184-4720>, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Engenheiro Agrônomo/Professor Associado I, BRAZIL, E-mail: genisodre@gmail.com

⁽⁴⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0275-4191>, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Zootecnista/Bolsista CAPES/Doutoranda em Ciências Agrárias, BRAZIL, E-mail: apismara@yahoo.com.br

⁽⁵⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0320-9179>, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Bióloga/Pesquisadora, BRAZIL, E-mail: gennauesb@hotmail.com

⁽⁶⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2220-5387>, Bióloga/Professor Pleno, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), BRAZIL, E-mail: candida.aguiar@gmail.com

⁽⁷⁾ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3306-3003>, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Engenheiro Agrônomo/Professor Titular, BRAZIL, E-mail: calfredo@ufrb.edu.br

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 18 de abril de 2020; Aceito em: 27 de abril de 2020; publicado em 10 de 07 de 2020. Copyright© Autor, 2020.

RESUMO: Inseticidas botânicos têm sido utilizados no controle alternativo de insetos-praga por apresentarem menor risco ao ambiente, mas também podem atuar toxicamente em organismos benéficos, especialmente as abelhas, como a *Melipona scutellaris*, importante polinizadora nativa no Brasil. Nesse estudo, objetivou avaliar o efeito de produtos comerciais à base de óleo de *Azadirachta indica* em operárias de *Melipona scutellaris*. Abelhas operárias recém-emergidas foram expostas à ingestão e contato em superfície contaminada de três produtos comerciais nas doses de 0,5%; 1,0% e 1,5% e controle contendo água destilada. Dois produtos comerciais (III e II), causaram maior mortalidade das abelhas em ambos os métodos de exposição, provocando também a diminuição na movimentação das operárias e posteriormente a morte. Essas informações são relevantes, de forma a alertar os agricultores de economia familiar para o uso moderado e controlado de produtos naturais no controle de pragas, especialmente àqueles que trabalham em regime de sistema agroecológico, onde a criação de abelhas sociais sem ferrão também tem sido incrementada.

PALAVRAS-CHAVE: Abelhas sem ferrão, Meliponicultura, óleo de Nem.

ABSTRACT: Botanical insecticides have been used in the alternative control of pest insects because they present less risk to the environment, but they can also act toxicly in beneficial organisms, especially bees, such as *Melipona scutellaris*, an important native pollinator in Brazil. In this study, it aimed to evaluate the effect of *Azadirachta indica* oil-based products on workers from *Melipona scutellaris*. Newly emerged worker bees were exposed to ingestion and contact on the contaminated surface of three commercial products at doses of 0.5%; 1.0% and 1.5% and control containing distilled water. Two commercial products (III and II) caused higher mortality to bees in both methods of exposure, also causing a decrease in the movement of workers and later death. This information is relevant, in order to alert family economy farmers to the moderate and controlled use of natural products in pest control, especially those who work under an agroecological system, where the breeding of stingless social bees has also been increased.

KEYWORDS: Stingless bee, Meliponiculture, Neem oil.

INTRODUÇÃO

Inseticidas botânicos comerciais têm sido aplicados no controle de pragas em alternativa aos inseticidas sintéticos. Eles são utilizados principalmente por agricultores familiares, pois são de fácil obtenção e utilização, além de serem de baixo custo (AHMAD et al., 2015; PANT et al., 2016; ALI et al., 2017). Dentre os mais utilizados estão os produtos à base de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), que possui o alcalóide azadiractina como principal princípio ativo (CAMPOS et al., 2016). A utilização de extratos de *A. indica* também oferece risco de contaminação ao ambiente, com o acúmulo de resíduo no solo, comprometendo suas propriedades físico-químicas (KIZILKAYA et al., 2015). A persistência do composto azadiractina no campo varia de três a sete dias (UNAL; AKKUZU, 2009), o uso intensivo pode estabilizar o composto no ambiente aumentando o efeito tóxico residual em organismos benéficos, dentre os quais merecem atenção às abelhas, devido ao seu importante papel ecossistêmico na polinização de espécies vegetais (GIANNINI et al., 2015; CHAMBÓ, 2016; ROUBIK et al., 2018). Os bioinseticidas podem ter toxicidade letal e ou subletal significativa para as abelhas, sendo algumas vezes tão elevada quanto à atribuída aos inseticidas sintéticos, como os neonicotinóides (BARBOSA et al., 2015a).

A maioria dos estudos de toxicidade de agrotóxicos em abelhas é focada na espécie *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Hymenoptera: Apidae), principalmente devido a sua importância econômica (ARENA; SGOLASTRA, 2014; BOFF et al., 2018; LEITE et al., 2018; VAN DYKE et al., 2018). Esta foi também a primeira espécie alvo de estudos de toxicidade do bioinseticida azadiractina (MELATHOPOULOS et al., 2000). Ainda pouco se sabe sobre os efeitos dos inseticidas botânicos comerciais, como aqueles à base de *A. indica* em outras abelhas, como *Bombus* spp. (KOSKOR et al., 2009; BARBOSA et al., 2015b) e as espécies sociais da tribo Meliponini, incluídas em diferentes gêneros (XAVIER et al., 2012; BARRETO et al., 2012; SINGH et al., 2015; BARBOSA et al., 2015a; LIMA et al., 2016; BERNARDES et al., 2018). Espécies de *Melipona* (Apidae: Meliponini) tem sido reportada visitando diversas espécies vegetais de interesse econômico (GIANNINI et al., 2015), contudo apenas *Melipona quadrifasciata* Lepeletier 1836 foi alvo de investigações sobre a toxicidade de bioinseticidas, como azadiractina (BARBOSA et al., 2015c) e espinosade (TOMÉ et al., 2015b).

Os efeitos negativos de azadiractina na sobrevivência das abelhas foram reportados para *A. mellifera* (XAVIER et al., 2015; AMARAL et al., 2015), *Tetragonisca angustula* Latreille 1811 (XAVIER et al., 2010), *Trigona spinipes* Fabricius 1793 (CORREIA-OLIVEIRA et al., 2012) e *Tetragonula iridipennis* Smith 1854 (SINGH et al., 2015). Adicionalmente, diversos efeitos subletais da azadiractina têm sido registrados em diferentes grupos de insetos, incluindo abelhas (LIMA et al., 2016). Azadiractina pode causar redução da alimentação e atuar como regulador de crescimento em insetos (MORGAN, 2009), além de ação esterilizante em diferentes espécies (SAYAH et al., 1998; ARNO; GABARRA, 2011).

Considerando a riqueza elevada de espécies de abelhas sem ferrão (Meliponini) no Brasil (PEDRO, 2014), e a importância das abelhas como polinizadores de culturas e suas diferentes particularidades, que resultam em variações interespecíficas na vulnerabilidade aos produtos fitossanitários (XAVIER et al., 2010; ARENA; SGOLASTRA, 2014; BERNARDES et al., 2016; DORNELES et al., 2017; LI et al., 2017), é importante direcionar a investigação dos efeitos dos agrotóxicos convencionais e dos bioinseticidas para as abelhas sem ferrão. A escassez de informações a respeito dos efeitos dos inseticidas botânicos sobre insetos benéficos constitui um importante obstáculo no uso sustentável de polinizadores em áreas agrícolas (FREITAS; PINHEIRO, 2010).

A. indica foi indicada como uma das espécies de alta prioridade para estudos de avaliação de riscos de agrotóxicos no Brasil, tendo como base diferentes critérios de importância, tais como: distribuição geográfica, abundância em áreas cultivadas e importância como polinizadores de plantas cultivadas e nativas (PIRES; TORENZANI, 2018). Objetivou com o presente estudo, avaliar o efeito de produtos comerciais à base de óleo de *Azadirachta indica* sobre *Melipona scutellaris* Latreille 1811 (Hymenoptera: Apidae) em condições de laboratório.

MATERIAIS E MÉTODOS

Operárias recém-emergidas de *Melipona scutellaris* provenientes de um meliponário instalado no município de Cruz das Almas, Estado da Bahia, Brasil foram

utilizadas nos bioensaios. A identificação e uniformidade de idade das operárias foram realizadas de acordo com Rother et al. (2009). As abelhas foram submetidas a dois métodos de exposição (Tratamento): contato direto com superfície contaminada e ingestão distribuídos em quatro tratamentos, sendo estes correspondentes a três produtos comerciais de óleo de Neem com formulação Concentrado Emulsionável – CE (Produtos I, II e III) e o tratamento controle (Água Destilada Esterilizada – ADE), com quatro repetições cada e três doses estabelecidas pelo fabricante: 5 mL/1000 mL (0,5%); 10 mL/1000 mL (1,0%) e 15 mL/1000 mL (1,5%), diluídas em 1.000 mL de ADE até total homogeneidade da solução preparada (ROTHER et al., 2009).

Em função dos resultados obtidos, cada produto foi enquadrado em classes de toxicidade para os dois métodos (Tratamentos) testados, seguindo critérios estabelecidos pela *International Organisation for Biological Control* – IOBC conforme metodologia descrita por Hassan; Degrande (1996), e adaptado por Rocha; Carvalho (2004): Nível 1 = não tóxico (< 30% de redução na capacidade de movimentação), Nível 2 = ligeiramente tóxico (30% ≤ 79% de redução na capacidade de movimentação), Nível 3 = moderadamente tóxico (80% ≤ 99% de redução na capacidade de movimentação) e Nível 4 = tóxico (> 99% de redução na capacidade de movimentação) (**Tabela 1**).

Tabela 1: Características dos produtos comerciais de óleo de Neem (*Azadirachta indica*) testados, com formulação Concentrado Emulsionável – CE e classe de toxicidade.

Produto	Concentração Azadiractina (ppm)	Dose comercial recomendada ¹ (%)	Doses testadas (%)	Classe de toxicidade ²
I	2000	0,5 a 1,0	0,5	2
			1,0	
			1,5	
II	2000	1,0	0,5	3
			1,0	
			1,5	
III	2389	2,0	0,5	4
			1,0	
			1,5	

¹ Doses comerciais recomendadas: 1% e 2% (Produto II, respectivamente para combate preventivo e curativo às pragas); 2% e 3% (Produto III, respectivamente para combate preventivo e curativo às pragas) (informações fornecidas no rótulo dos produtos comerciais). ² Classe de toxicidade (HASSAN; DEGRANDE, 1996), adaptado por Rocha; Carvalho (2004).

Os bioensaios foram instalados em recipientes plásticos (15 cm de diâmetro e 13 cm de altura) forrados internamente com papel filtro, sendo a parte superior coberta com

tecido tipo *voil* de seda e vedados com liga elástica. Em cada recipiente foram acondicionadas cinco abelhas operárias adultas, sendo utilizados 20 indivíduos por dose, totalizando 240 abelhas para cada método de exposição.

As abelhas do tratamento controle receberam uma solução de mel a 10% (100 g / 1.000 mL de ADE) e água, umedecidos em chumaço de algodão. A exposição aos produtos foi realizada em dois Métodos (Tratamentos) como segue:

Método de ingestão: Foram incorporadas solução diluída de mel a 10% às doses testadas e fornecidos às abelhas por meio de chumaço de algodão umedecido, os quais foram trocados diariamente, a fim de evitar o ressecamento.

Método de contato direto: Discos de papel filtro foram embebidas por cinco segundos nas doses pré-estabelecidas para cada produto e secas sob temperatura ambiente por aproximadamente duas horas para favorecer a secagem total dos discos (ROTHER et al., 2009), em seguida dispostas no fundo do recipiente. Em seguida as abelhas foram inseridas no recipiente. O alimento oferecido às abelhas desse método foi semelhante ao fornecido no método de ingestão. Como tratamento controle utilizamos o papel filtro imerso por cinco segundos em água destilada.

O ensaio experimental foi realizado em B.O.D. (*Biological Oxygen Demand*) sob temperatura de $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70\% \pm 5\%$, com 12/12 h de fotoperíodo. A taxa de mortalidade foi considerada, a partir das 24 h após as aplicações, para os dois métodos de exposição até 72 h de observação (ROTHER et al., 2009).

Os dados foram transformados pela $\sqrt{x+0,5}$, submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando os pacotes ExpDes.pt, agricolae e o lmtest do programa estatístico R (R CORE TEAM, 2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise dos produtos *versus* as doses no tratamento por ingestão apresentaram efeito significativo ($p < 0,001$) (**Figura 1**), onde o Produto III quando aplicado por esse método nas doses de 1,0 e 1,5%. Este Produto apresentou mortalidade de 100% às operárias de *Melipona scutellaris*, classificado como tóxico (Nível 4) em ambos

os tratamentos testados (métodos de exposição). Já os Produtos I e II na dose de 1,0% para os dois tratamentos testados, foram classificados como ligeiramente tóxico (Nível 2) com 40% de mortalidade e moderadamente tóxico (Nível 3) com 80% de abelhas mortas, respectivamente.

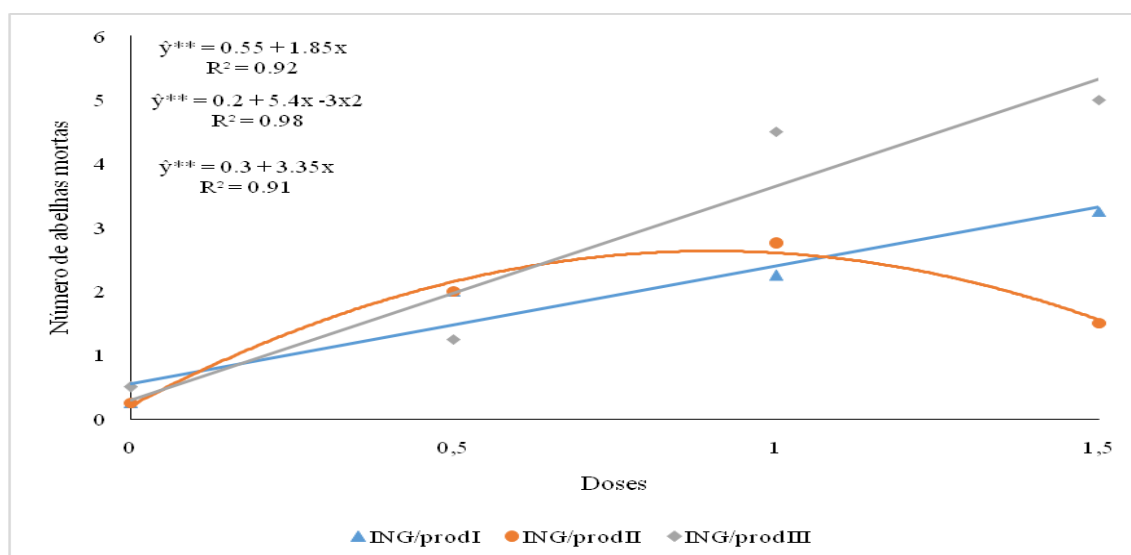


Figura 1. Mortalidade de operárias de *Melipona scutellaris* expostas via ingestão (ING) dos produtos (prod) comerciais I, II e III nas doses 5 mL, 10 mL e 15 mL (0,5%, 1,0% e 1,5%), entre 24 e 72 h após a exposição.

Tabela 2: Mortalidade de operárias de *Melipona scutellaris* entre 24 e 72 horas após a exposição via contato direto com superfície contaminada e ingestão em diferentes doses (%) de três produtos (Prod) comerciais de óleo de *Azadirachta indica*. Formulação concentrado emulsionável (CE) nas Doses: 5 mL/1.000 mL, 10 mL/1.000 mL e 15 mL/1.000 mL (0,5%; 1,0%; e 1,5%).

Método de exposição	Produtos		
	Prod I	Prod II	Prod III
Tratamento controle (0,0%)			
CONTATO	0,00 aA	0,25 aA	0,25 aA
INGESTÃO	0,25 aA	0,25 aA	0,50 aA
Dose 0,5%			
CONTATO	3,25 aA	1,50 aB	0,25 aB
INGESTÃO	2,00 aA	2,00 aA	1,25 aA
Dose 1,0%			
CONTATO	1,50 aC	3,25 aB	5,00 aA
INGESTÃO	2,25 aB	2,75 aB	4,50 aA
Dose 1,5%			
CONTATO	2,00 aB	3,50 aAB	5,00 aA
INGESTÃO	3,25 aB	1,50 bC	5,00 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A exposição das operárias via contato direto com superfície contaminada (**Figura 2**) demonstrou a toxicidade da azadiractina às operárias de *Melipona scutellaris* nas doses de 1,0 e 1,5%, resultando em alta mortalidade, tanto para o Produto III (Classe de toxicidade: Nível 4 – tóxico) quanto para o Produto II (Classe de toxicidade: Nível 3 – moderadamente tóxico).

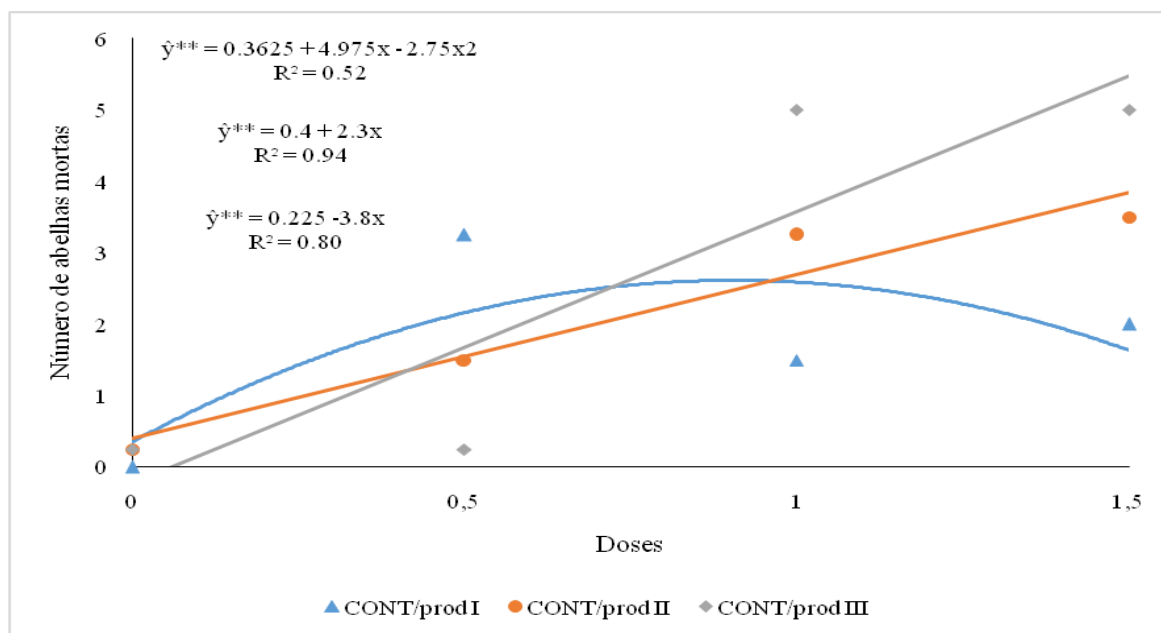


Figura 2. Mortalidade de operárias de *Melipona scutellaris* exposta via contato direto com superfície contaminada (CONT) com os Produtos (prod) comerciais III, II e I nas doses 5 mL, 10 mL e 15 mL (0,5%, 1,0% e 1,5%), entre 24 e 72 h após a exposição.

Azadirachta indica apresentou efeito tóxico para *Melipona scutellaris* em doses acima de 1,0%, nos dois métodos de exposição (Tratamentos) aplicados em condições controladas, causando sintomas como perda da coordenação motora e mortalidade nas operárias.

As abelhas apresentaram sintomas de intoxicação em menos de 24 h após aplicação do Produto III (Classe de toxicidade: Nível 4 – tóxico) na dose 1,0% e do Produto II (Classe de toxicidade: Nível 3 – moderadamente tóxico) na dose de 1,5% em ambos os métodos de exposição testados, apresentando lentidão dos movimentos, falta de orientação, tremores nas pernas, paralisia e posteriormente a morte.

Observou-se que apenas o Produto I não apresentou diferença na mortalidade às operárias de *Melipona scutellaris* causada entre as doses utilizadas, tanto na aplicação por contato como por ingestão (**Tabela 2**). A toxicidade do Neem pode estar relacionada com o tipo de formulação dos produtos testados, sendo no presente estudo tipo

Concentrado Emulsionável (CE), e/ou concentração do ingrediente ativo do óleo de Neem comercializado (**Tabela 1**).

Melathopoulos et al. (2000) avaliaram o efeito da azadiractina em *A. mellifera* e seus parasitos testando diferentes doses de produtos de nim em formulação de pó (0,02;0,04;0,09;0,17;0,34;0,68;1,37 e 2,7 mg / ml), e verificaram que não houve diferença estatística na toxicidade e mortalidade das operárias tratadas e não tratadas. Entretanto, esses autores observaram que as larvas foram suscetíveis aos compostos do Neem e que doses subletais proporcionaram diferentes malformações quando os imagos emergiram dos casulos.

Efeitos negativos de azadiractina no desenvolvimento e sobrevivência das abelhas têm sido reportados para diferentes espécies, como em *A. mellifera* (XAVIER et al., 2015; AMARAL et al., 2015), *Tetragonisca angustula* Latreille (XAVIER et al., 2010; BARRETO et al., 2012), *Trigona spinipes* Fabricius (CORREIA-OLIVEIRA et al., 2012) e *Tetragonula iridipennis* Smith (SINGH et al., 2015).

Além dos efeitos letais, diversos tipos de efeitos subletais têm sido relatados para diferentes espécies de abelhas. Alterações no comportamento, como desorientação das operárias foram reportadas para *T. spinipes* (CORREIA-OLIVEIRA et al., 2012) e alterações na decolagem de voo para *S. xanthotrica* e *P. helleri* (TOMÉ et al., 2015b), assim como alteração no forrageamento por pólen (KOSKOR et al., 2009).

A azadiractina também pode provocar alterações morfológicas na progênie (BARBOSA et al., 2015b) e efeitos nas rainhas, como redução na sobrevivência, alterações no tempo de desenvolvimento, deformações e redução no tamanho dos órgãos reprodutores (BERNARDES et al., 2018). A azadiractina não afetou a mortalidade das operárias de *Melipona quadrifasciata* e *Partamona helleri* expostas por contato e ingestão, mas induziu significativamente o comportamento de redução da alimentação em *P. helleri* (Bernardes et al., 2016). Barreto e colaboradores (2012) reportaram que o extrato de Neem na dose 3%, em contato direto em operárias de *Tetragonisca angustula* provocou alteração do comportamento, apresentando lentidão nos movimentos, paralisia, e posteriormente a morte em 24 h.

A mortalidade de abelhas operárias expostas a extratos de várias plantas usadas como bioinseticidas registrada por vários autores (ABRAMSON et al., 2007; XAVIER et al., 2010; LIMA et al., 2016) reforça a necessidade de cuidados com o uso de plantas

inseticidas no controle de pragas em agroecossistemas. Estudos sobre inseticidas botânicos utilizados no controle de pragas em sistemas agrícolas devem ser realizados com abordagem relacionada à toxicidade, efeito residual, formas de aplicação e seus efeitos adversos sobre adultos e larvas de abelhas, de modo que venham a subsidiar a conservação e melhor manejo destes insetos (ROTHER et al., 2009; XAVIER et al., 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os produtos comerciais (III e II) causaram maior mortalidade das abelhas em ambos os métodos de exposição, provocando também a diminuição na movimentação das operárias e posteriormente a morte.

A mortalidade e as alterações do comportamento das operárias expostas às doses subletais de azadiractina é preocupante, se considerado o uso comum dos produtos formulados com *Azadirachta indica* em agroecossistemas, particularmente na agricultura familiar. Os resultados desse estudo são relevantes para a conservação de *M. scutellaris*, alertando os agricultores de economia familiar para a necessidade do uso moderado e controlado de produtos naturais no controle de pragas, especialmente àqueles que trabalham em regime de sistema agroecológico, onde a criação de abelhas sociais sem ferrão também tem sido incrementada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 305885/2017-0).

REFERÊNCIAS

1. ABRAMSON, C. I., WANDERLEY, P. A., WANDERLEY, M. J. A., SILVA, J. C. R., MICHALUK, L. M. The Effect of Essential Oils of Sweet Fennel and Pignut on Mortality and Learning in Africanized Honeybees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, v.36, p.828-835, 2007.
2. AHMAD, S., ANSARI, M. S., MUSLIM, M. Toxic effects of neem based insecticides on the fitness of *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Crop Protection*, v.68, p.72-78, 2015.
3. ALI, S. S., AHMED, S. S., RIZWANA, H., BHATTI, F., KHOSO, A. G., MENGAL, M. I., JATOI, J. H., BUGTI, A., RIND, M. A., SHAHWANI, S. A. Efficacy of different biopesticides against major sucking pests on brinjal under field conditions. *Journal of Basic & Applied Sciences*, v.13, p.133-138, 2017.
4. AMARAL, R.L.; VENZON, M.; MARTINS FILHO, S.; LIMA, M.A.P. Does ingestion of neem-contaminated diet cause mortality of honey bee larvae and foragers? *Journal of Apicultural Research*, v. 54, n. 4, p. 405-410, 2015.
5. ARENA M., SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology*, v.23, p.324-334, 2014.
6. ARNO, J.; GABARRA, R. Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Pest Science* v.84, p.513-520, 2011.
7. BARBOSA, W.F.; DE MEYER, L.; GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology*, v. 24, n. 1, p. 130-142, 2015b.
8. BARBOSA, W.F.; SMAGGHE, G.; GUEDES, R.N.C. Pesticides and reduced-risk insecticides, native bees and pantropical stingless bees: pitfalls and perspectives. *Pest Management Science*, v. 71, n. 8, p. 1049-1053, 2015a
9. BARBOSA, W.F.; TOMÉ, H.V.V.; BERNARDES, R.C.; SIQUEIRA, M.A.L.; SMAGGHE, G.; GUEDES, R.N.C. Biopesticide induced behavioral and morphological alterations in the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.34, p.2149-2158, 2015a.

10. BARRETO, A. Q., BRITO, S. X., CARVALHO, C. A. L., NASCIMENTO, A. S., LÊDO, C. A. S. Contact action of neem extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Tetragonisca angustula* Latreille (Hymenoptera: Apidae) under controlled conditions. *Magistra*, v.24, p.52-56, 2012.
11. BERNARDES, R. C., BARBOSA, W. F., MARTINS, G. F., LIMA, M. A. P. The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1900) queens. *Chemosphere*, v.201, p.550-556, 2018.
12. BOFF, S., FRIEDEL, A., MUSSURY, R. M., LENIS, P. R., RAIZER, J. Changes in social behavior are induced by pesticide ingestion in a Neotropical stingless bee. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.164, p. 548-553, 2018.
13. CAMPOS, E.V.R., OLIVEIRA, J.L., PASCOLI, M., LIMA, R., FRACETO, L.F. Neem oil and crop protection: from now to the future. *Front Plant Science*, v.5, p.722-729, 2016.
14. CHAMBÓ, E. D. *Beekeeping and bee conservation: advances in research*. InTech, Rijeka, Croatia. 2016. pp.242.
15. CORREIA-OLIVEIRA M.E., PODEROSO, J.C.M., FERREIRA, A.F., DE OLINDA, R. A., RIBEIRO, G. T. Impact of aqueous plant extracts on *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, v.59, p.1-10, 2012.
16. DORNELES A.L., DE SOUZA R.A, BLOCHTEIN B. Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*. *Apidologie*, v.48, p.612-620, 2017.
17. FREITAS, B. M., PINHEIRO, J. N. Efeitos sub-letais dos pesticidas agrícolas e seus impactos no manejo de polinizadores dos agroecossistemas brasileiros. *Oecologia Brasiliensis*, v.14, p.282-298, 2010.
18. GIANNINI, T. C.; BOFF, S.; CORDEIRO, G.D.; CARTOLANO JR., E.A.; VEIGA, A.K. ; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SARAIVA, A.M. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie*, v.46, n.2, p.209-223, 2015.
19. HASSAN, S.A.; DEGRANDE, P.E. Methods to test the side effects of pesticides on *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P; ZUCCHI, R.A. (Org.). Curso de controle biológico com *Trichogramma*. Piracicaba: FEALQ, 1996. p.63-74.
20. KIZILKAYA, R., SAMOFALOVA, I., MUDRYKH, N., MIKAILSOY, F., AKÇA, İ., SUSHKOVA, S., MINKINA, T. Assessing the impact of azadirachtin

application to soil on uréase activity and its kinetic parameters. *Journal of Agriculture and Forestry*, v.39, p.976-983, 2015.

21. KOSKOR, E., MULJAR, R., DRENKHAN, K., KARISE, R., BENDER, A., VIIK, E., LUIK, A., MÄND, M. The chronic effect of the botanical insecticide Neem EC on the pollen forage of the bumble bee *Bombus terrestris* L. *Agronomy Research*, v.7, p.341-346, 2009.

22. LEITE, D.T., SAMPAIO, R.B., DOS SANTOS, C.O., DOS SANTOS, J.N., CHAMBÓ, E.D., DE CARVALHO, C.A.L., DA SILVA SODRÉ, G. Toxicity of Fenpyroximate, Difenconazole and Mineral Oil on *Apis mellifera* L. *Sociobiology*, v.65, p.737-743, 2018.

23. LI Z.G., LI M., HUANG J.N., MA C.S., XIAO L.C., HUANG Q., ZHAO Y.Z., NIE H.Y., SU S.K. Effects of Sublethal Concentrations of Chlorpyrifos on Olfactory Learning and Memory Performances in Two Bee Species, *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Sociobiology*, v.64, p.174-181, 2017.

24. LIMA M.A.P., MARTINS G.F., OLIVEIRA E.E., GUEDES R.N.C. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. *Journal of Comparative Physiology A*, v.202, p.733-747, 2016.

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

26. MORGAN E.D. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.17, n.12, p.4096-4105, 2009.

27. PANT, M., DUBEY, S., PATANJALI, P. K. Recent Advancements in Bio-botanical Pesticide Formulation Technology Development. In: Vijay Veer, Gopalakrishnan R. (Eds) *Herbal Insecticides, Repellents and Biomedicines: Effectiveness and Commercialization*, New York: Springer, 2016.

28. PEDRO, S.R.M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, v. 61, n.4, p.348-354, 2014.

29. PIRES, C. S. S.; TOREZANI, K. R. S. *Seleção de espécies de abelhas nativas para avaliação de risco de agrotóxicos*. Brasília: Ibama. 2018.
30. R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2017. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2017. Disponível em <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 05 jun. 2019.
31. ROCHA, L.C.D.; CARVALHO, G.A. Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. *Acta Scientiarum Agronomy* v26, n. 3: p. 315-320, 2004
32. ROTHER, D. C., SOUZA, T. F., MALASPINA, O., BUENO, O. C., SILVA, M. F. G. F., VIEIRA, P. C., FERNANDES, J. B. Suscetibilidade de operárias e larvas de abelhas sociais em relação à ricinina. *Iheringia*, 99: 161-65, 2009.
33. ROUBIK, D. W., HEARD, T. A., KWAPONG, P. Stingless bee colonies and pollination. In: Roubik D.W. (Org.). *The pollination of cultivated plants: A compendium for practitioners*. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018.
34. SAYAH, F.; IDAOMAR, M.; SORANZO, L.; KARLINSKY, A. Endocrine and neuroendocrine effects of Azadirachtin in adult females of the earwig *Labidura riparia* F. *Tissue & Cell*, v.30, n.1, p.86-94, 1998.
35. SINGH P., KHAN M.S., KUNJWAL, N. Impact of botanical insecticides on the stingless bees, *Tetragonula iridipennis* S. and the honey bees, *Apis mellifera* L. adults bees (Hymenoptera: Apidae). *The Bioscan*, v.10, n.4, p.1461-1463, 2015.
36. TOMÉ, H. V. V., BARBOSA, W. F., CORRÊA, A. S., GONTIJO, L. M., MARTINS, G. F., GUEDES, R. N. C. Reduced-risk insecticides in Neotropical stingless bee species: impact on survival and activity. *Annals of Applied Biology*, v.167, n.2, p.186-196, 2015b.
37. UNAL, S., AKKUZU, E. Larvaecidal effects of azadirachtin on the pine processionary moth. *African Journal of Biotechnology*, v.8, n.19, p.5128-5131, 2009.
38. VAN DYKE; MULLEN M.E.; WIXTED D.; SCOTT M.S. *A Pesticide Decision-Making Guide to Protect Pollinators in Tree Fruit Orchards*. Ithaca: Cornell University, 2018. Disponível em <https://pollinator.cals.cornell.edu/resources/grower-resources/>. Acesso em 15 dez. 2018.

39. XAVIER, V. M., MESSAGE, D., PIKANÇO, M. C., BACCI, L., SILVA, G. A., BENEVENUTE, J. S. Impact of Botanical Insecticides on Indigenous Stingless Bees (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, v.56, n.3, p.1-14, 2010.
40. XAVIER, V. M., PIKANÇO, M. C., CHEDIK, M., JÚNIOR, P. A. S., RAMOS, R. S., MARTINS, J. C. Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. *Journal of Insect Science*, v.15, n.1, p.137, 2015.