

**Toxicidade oral de inseticidas derivados do NIM sobre a abelha
africanizada *Apis Mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**

**Oral toxicity of neem derived insecticides on the africanized bee *Apis
Mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**

DOI:10.34117/bjdv8n5-493

Recebimento dos originais: 21/03/2022

Aceitação para publicação: 29/04/2022

Allysson Johnny Torres Mendonça

Mestrando

Instituição: Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola - Universidade Federal
de Campina Grande (UFCG)

Endereço: Rua Oliven Queiroz, 178, Bela Vista, Patos - PB, CEP: 58704-520

E-mail: allyssonjohnny@hotmail.com

Vitor da Silva Rodrigues

Bacharel em Agronomia pela Universidade Federal de Campina Grande, campus
Pombal, PB

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Endereço: Rua Jairo Vieira Feitosa, 1770 - Pereiros, Pombal - PB, CEP: 58840-000

E-mail: vitor.ufcg.123@gmail.com

Emanoely Karoliny Santos da Silva

Bacharel em Agronomia pela Universidade Federal de Campina Grande, campus
Pombal, PB

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Endereço: Rua Jairo Feitosa, Pereiros, Pombal-PB, Brasil

E-mail: emanoelyka@gmail.com

Rafael Pereira da Silva

Graduando em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Endereço: Rua Nossa Senhora do Rosário, N° 172, Bairro Jardim Sorrilândia II, Sousa
PB

E-mail: rafael.p.silva@estudante.ufcg.edu.br

Carlos Henrique Peixoto de Barros

Bacharel em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Endereço: Rua 1 N°63, bairro Cohab 2, Parnamirim-PE

E-mail: henriquepeixotodb8@gmail.com

Tiago Augusto Lima Cardoso

Doutorado

Instituição: Programa de Pós-graduação em Sistemas Agroindustriais - Acadêmico
Universidade Federal de Campina Grande

Endereço: Rua Jairo Vieira Feitosa, 1770 - Pereiros, Pombal – PB

CEP: 58840-000

E-mail: tiagoipj@yahoo.com.br

Elton Lucio de Araujo

Doutorado

Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, 572 - Pres. Costa e Silva, Mossoró – RN

CEP: 59625-900

E-mail: elton@ufersa.edu.br

Ewerton Marinho da Costa

Doutorado

Instituição: Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA/UFCG)

Endereço: Rua Jairo Vieira Feitosa, 1770 - Pereiros, Pombal – PB

CEP: 58840-000

E-mail: ewerton.marinho@professor.ufcg.edu.br

RESUMO

O estudo da toxicidade de inseticidas sobre a abelha *Apis mellifera* fornece subsídios para a preservação desse polinizador em áreas agrícolas. Diante disso, objetivou-se avaliar a toxicidade oral de inseticidas derivados do nim (*Azadirachta indica*) sobre *A. mellifera* em condições de laboratório. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por oito tratamentos [Testemunha absoluta: água destilada; Testemunha positiva: Inseticida Tiametoxam; duas doses do óleo comercial de nim (150 ml/100 L e 200 ml/100 L); duas doses do extrato aquoso de folhas de nim (5 g/100 ml e 10 g/100 ml); e duas doses do extrato aquoso de sementes de nim (5 g/100 ml e 10 g/100 ml)] e 10 repetições. Os inseticidas a base de nim (extratos aquosos e óleo comercial) ocasionaram mortalidade entre 12,9% e 25,9% sobre as abelhas, demonstrando baixa toxicidade a *A. mellifera* quando comparados com testemunha positiva (Inseticida Tiametoxam), que ocasionou 100% de mortalidade. No entanto, ocorreu uma alteração no comportamento das abelhas após o início da ingestão de dieta contaminada com os inseticidas derivados do nim, havendo uma redução na procura pela dieta artificial, especialmente nas duas doses do óleo comercial. Todos os tratamentos com inseticidas a base de nim apresentaram Tempo Letal Mediano (TL₅₀) superiores a testemunha positiva. O óleo comercial de nim, independente da dose, apresentou TL₅₀ de 86,22 horas, enquanto os extratos aquosos de semente e folhas de nim, independente da dose, proporcionaram um TL₅₀ de 103,75 horas.

Palavras-chave: *Azadirachta indica*, controle alternativo, mortalidade, polinizador.

ABSTRACT

Studying the toxicity of insecticides on *Apis mellifera* bees provides support for the preservation of pollinator in agricultural areas. This study evaluates the oral toxicity of insecticides derived from neem (*Azadirachta indica*) on *A. mellifera* under laboratory conditions. The experiment comprised a completely randomized design consisting of

eight treatments [Absolute control: distilled water; Positive control: Thiamethoxam Insecticide; two doses of commercial neem oil (150 ml/100 L and 200 ml/100 L); two doses of aqueous extract of neem leaves (5 g/100 ml and 10 g/100 ml); and two doses of aqueous extract of neem seeds (5 g/100 ml and 10 g/100 ml)], all with 10 repetitions. The neem-based insecticides (aqueous extracts and commercial oil) caused mortality percentages from 12.9% and 25.9%, showing low toxicity to *A. mellifera* when compared to the positive control (Insecticide Thiamethoxam), which caused 100% of mortality. However, there was a change in the bees' behavior, because, after the ingestion of the food with neem-derived insecticides, bees reduced the use of artificial diet, especially the two doses of commercial oil. All treatments with neem-based insecticides showed Median Lethal Time (TL₅₀) higher than the positive control. The commercial neem oil, independent of the dose, had a TL₅₀ of 86.22 hours, while the aqueous extracts of neem seed and leaves, independent of the dose, provided a TL₅₀ of 103.75 hours.

Keywords: *Azadirachta indica*, alternative control, mortality, pollinator.

1 INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos essenciais para polinização e manutenção dos ecossistemas terrestres (MACIEL et al., 2018; PAIXÃO; SILVA 2021). Em áreas agrícolas, a polinização realizada pelas abelhas é fundamental para maioria das culturas exploradas economicamente (KLEIN et al., 2020), destacando-se a espécie *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) como um dos polinizadores mais eficientes (GARIBALDI et al., 2016).

Nos últimos anos, tem sido observado o desaparecimento de abelhas em áreas agrícolas de todo o mundo, sendo a aplicação de pesticidas nas lavouras, especialmente os inseticidas, uma das principais causas desse problema (GODFRAY et al., 2014; ROSA et al., 2019). As abelhas podem entrar em contato com inseticidas por meio da exposição a partículas suspensas no ar e nas partes vegetais, bem como pela ingestão de néctar e pólen contaminados, o que pode proporcionar efeito letal e subletal (PIRES et al., 2016; HEARD et al., 2017).

Uma das alternativas para reduzir a dependência por pesticidas sintéticos no manejo de pragas é a utilização de inseticidas naturais ou biopesticidas, como os extratos e óleos vegetais. Dentre as espécies vegetais com efeito inseticida, o nim (*Azadirachta indica* A. Juss), cujo principal ingrediente ativo é a Azadiractina, é uma das mais estudadas no mundo (MARTÍNEZ, 2002). Todavia, pesquisadores alertam para necessidade de avaliar os efeitos letais e subletais dos biopesticidas sobre as abelhas, pois já foram observados impactos negativos sobre polinizadores após exposição a alguns

desses produtos, como por exemplo o óleo de nim (BARBOSA et al., 2015; BERNARDES et al., 2017).

O óleo da semente de nim já foi relatado ocasionando redução na sobrevivência e alimentação de operárias adultas das abelhas *A. mellifera*, *Bombus Terrestris* L., *Melipona quadrifasciata* L., *Partamona hellerie* F. e *Tetragonula iridipennis* S. (MELATHOPOULOS et al., 2000; SINGH et al., 2015; BARBOSA et al., 2015; BERNARDES et al., 2017). Xavier et al. (2015) destacaram que o óleo comercial do nim causou efeito letal e subletal em larvas e adultos de *A. mellifera* na concentração de 2 ml/L. De acordo com Alves (2010), inseticidas a base do nim ocasionam efeito repelente em campeiras, toxicidade para operárias e mortalidade de larvas. Por outro lado, ainda são escassas informações sobre os efeitos dos extratos aquosos de folhas e sementes de nim sobre *A. mellifera*.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a toxicidade oral de inseticidas derivados do nim sobre a abelha africanizada *A. mellifera*, visando ampliar as informações relacionadas ao tema e contribuir para o manejo sustentável da referida abelha em áreas agrícolas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia (sala climatizada a 25 ± 2 °C, $50 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 h) pertencente ao Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Pombal – PB.

Para realização do trabalho foram utilizadas operárias adultas de *A. mellifera* provenientes de três colônias pertencentes ao apiário do CCTA/UFCG. Os inseticidas a base de nim avaliados foram: extrato aquoso das sementes, extrato aquoso das folhas e óleo comercial de nim (Azamax[®]). Como testemunha absoluta foi utilizada água destilada e como testemunha positiva o inseticida Actara[®] (Tiametoxam) na dose máxima recomendada para o controle de pragas em meloeiro (Tabela 1).

Tabela 1. Inseticidas a base de nim e respectivas doses (mínima e máxima) que foram avaliados com relação à toxicidade sobre a abelha africanizada *Apis mellifera*. Pombal – PB, 2021.

Tratamentos	Ingrediente Ativo	Dose
Testemunha Absoluta (água destilada)	-	-
Testemunha positiva (Actara®)	Tiametoxam	0,30 g i. a. L ⁻¹
Azamax®	Azadiractina	150 ml/100 L (0,018 g i. a. L ⁻¹)
Azamax®	Azadiractina	200 ml/100 L (0,028 g i. a. L ⁻¹)
Extrato de Sementes de nim	Azadiractina	5 g /100 ml
Extrato de Sementes de nim	Azadiractina	10 g / 100 ml
Extrato de Folhas de nim	Azadiractina	5 g / 100 ml
Extrato de Folhas de nim	Azadiractina	10 g / 100 ml

Para o preparo dos extratos vegetais, inicialmente foram coletadas folhas e frutos maduros em plantas de nim localizadas no CCTA/UFCG. Após coleta, os materiais foram transportados ao laboratório, sendo as sementes obtidas por meio da remoção da polpa dos frutos. Em seguida folhas e sementes foram secas, separadamente, em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 40°C por um período de 48h. Após a secagem, os materiais foram triturados em um liquidificador até a obtenção do pó. As concentrações dos extratos de nim foram obtidas a partir das quantidades de 5 e 10 g do pó, tanto para folhas quanto para sementes, adicionadas a 100 ml de água destilada, sendo a mistura mantida em repouso por 24 horas, em ambiente escuro, para extração das substâncias bioativas. Todas as misturas foram filtradas em tecido Voil antes da aplicação.

A toxicidade oral dos inseticidas derivados do nim foi avaliada seguindo a metodologia utilizada por Costa et al. (2014). Inicialmente, operárias adultas de *A. mellifera* foram anestesiadas por meio do frio (\pm 4°C por 90 segundos) e em seguida distribuídas em arenas [recipientes plásticos (15 cm de diâmetro X 15 cm de altura) com a extremidade parcialmente coberta com tela anti-afídeo e laterais com aberturas de 0,1 cm], nas quais permaneceram por 2 horas sem alimento.

A dieta artificial utilizada foi a Pasta Cândi, que foi obtida misturando-se mel e açúcar refinado. Logo após o preparo, a dieta foi fracionada em porções de aproximadamente 10g, acondicionadas em recipientes plásticos individualmente, sendo posteriormente pulverizadas com os inseticidas utilizando-se um pulverizador manual. Após a pulverização, a dieta contaminada foi inserida nas arenas, juntamente com algodão embebido em água destilada. Ressalta-se que as abelhas ficaram sob observação constante até que se obteve a confirmação da ingestão do alimento.

O bioensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto por oito tratamentos [Testemunha absoluta– água destilada; Testemunha positiva – Actara® (Tiametoxam); óleo comercial de nim– 150 ml/100 L; óleo comercial de nim–

200ml/100 L; extrato aquoso de folhas de nim– 5 g/100 ml; extrato aquoso de folhas de nim– 10 g/100 ml; extrato aquoso de sementes de nim– 5 g/100 ml; e extrato aquoso de sementes de nim– 10g/100 ml], em 10 repetições cada, sendo cada unidade experimental formada por 10 abelhas operárias adultas.

Foram avaliadas a mortalidade e o comportamento (prostração, tremores, paralisia e redução de alimentação) das abelhas a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 24, 36 e 48 horas após o início da exposição aos tratamentos. Foram registradas como mortas às abelhas que não responderem a estímulos mecânicos (toques no corpo das abelhas, em cada período de avaliação, com um pincel fino).

A porcentagem de mortalidade foi calculada para cada tratamento e corrigida por meio da equação de Abbott (ABBOTT, 1925), sendo em seguida aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Para os dados de sobrevivência dos adultos foi utilizado o pacote Survival (THERNEAU; LUMLEY, 2010) do software R, sendo os dados submetidos à análise de distribuição de Weibull. Os tratamentos com efeitos semelhantes (toxicidade e velocidade de mortalidade) foram agrupados usando contrastes. O tempo letal mediano (TL₅₀) também foi calculado para cada grupo formado. Todas as análises foram realizadas por meio do software R (R Development Core Team, 2020).

3 RESULTADOS

Os inseticidas a base de nim (extratos aquosos e óleo comercial) ocasionaram mortalidade entre 12,9% e 25,9% sobre as abelhas após a ingestão da dieta contaminada, sendo considerados pouco tóxicos a *A. mellifera* quando comparados com testemunha positiva (Inseticida Tiametoxam), que ocasionou 100% de mortalidade ao final do período de avaliação. Não houve diferença estatística entre os extratos aquosos (folha e semente) e o óleo comercial de nim, sendo os menores percentuais de mortalidade registrados para os extratos das sementes e folhas, com mortalidade inferior a 15% independente da dose avaliada (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade (%) de *Apis mellifera* via ingestão de dieta contaminada com os diferentes inseticidas derivados de nim, Pombal – PB, 2021.

Tratamentos	Dose	Mortalidade (%)*
Testemunha absoluta (água destilada)		0c
Testemunha positiva (Inseticida Tiametoxam)	0,30 g. i. a./L	100a

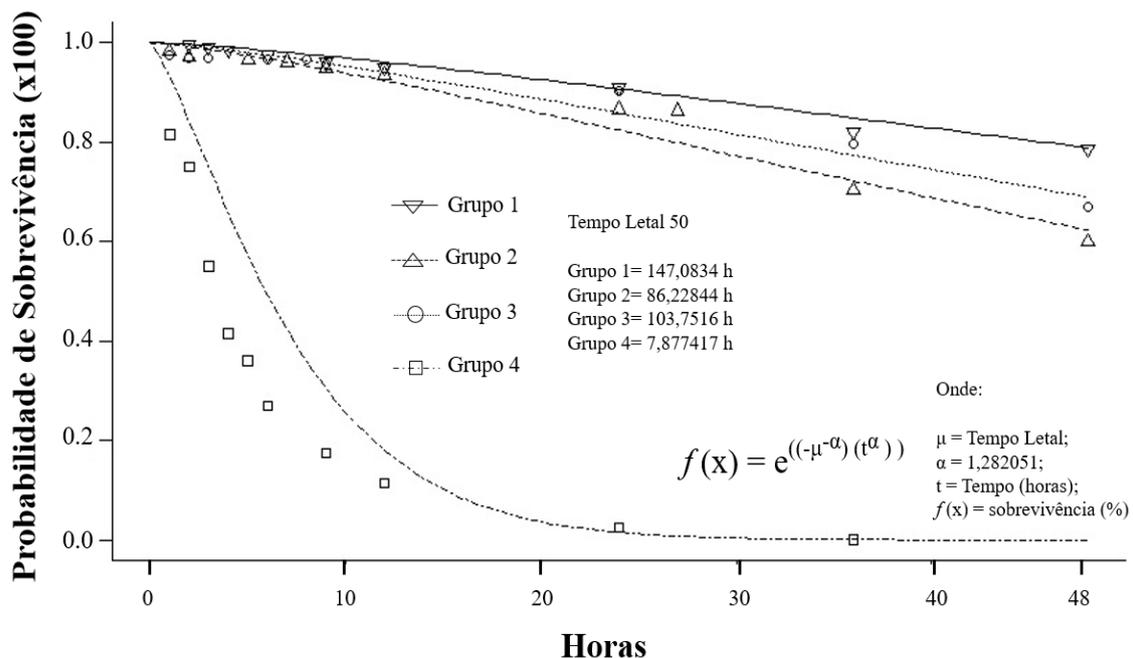
Óleo comercial de nim (Azamax®)	150 ml/100 L	20,0b
Óleo comercial de nim (Azamax®)	200 ml/100 L	25,9b
Extrato aquoso de sementes de nim	5g/100 ml	14,2b
Extrato aquoso de sementes de nim	10g/100 ml	14,9b
Extrato aquoso de folhas de nim	5g/100 ml	12,9b
Extrato aquoso de folhas de nim	10g/100 ml	13,2b

*Mortalidade corrigida pela equação de Abbott (1925) e médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Kruskal – Wallis ao nível de 5% de significância.

Após o início da ingestão de dieta contaminada com os inseticidas derivados de nim houve uma redução na procura pela dieta artificial, especialmente nas duas doses do óleo comercial, o que sugere uma alteração sobre o comportamento das abelhas. As abelhas expostas a dieta contaminada com Tiametoxam apresentaram tremores, prostração e posterior paralisia antes da morte.

De acordo com a análise de sobrevivência, todos os tratamentos com inseticidas a base de nim apresentaram Tempo Letal Mediano (TL₅₀) superiores a testemunha positiva. O óleo comercial de nim, independente da dose, apresentou TL₅₀ de 86,22 horas, enquanto os extratos aquosos de semente e folhas de nim, independente da dose, proporcionaram uma TL₅₀ de 103,75 horas, enquanto que a testemunha positiva apresentou TL₅₀ de 7,87 horas (Figura 1).

Figura 1. Sobrevivência (%) de *A. mellifera* após fornecimento de dieta contaminada com os respectivos tratamentos e tempos letais mediano (TL₅₀) em horas, Pombal – PB, 2021.



Grupo 1: Testemunha absoluta – Água destilada. Grupo 2: Óleo comercial de nim [150 ml/100 L (0,018 g i. a. L-1) e 200 ml/100 L (0,028 g i. a. L-1)]; Grupo 3: Extrato aquoso de sementes de nim (5 g/100 ml e 10 g/100 ml) e Extrato aquoso de folhas de nim (5 g/100 ml e 10 g/100 ml); Grupo 4: Testemunha positiva – Inseticida Tiametoxam.

4 DISCUSSÃO

Todos os inseticidas derivados do nim foram menos tóxicos do que a testemunha positiva, o inseticida Tiametoxam, produto que já foi relatado como extremamente nocivo às operárias adultas de *A. mellifera* via ingestão (COSTA et. al., 2014). Sabe-se que os efeitos adversos da Azadiractina sobre *A. mellifera* dependem da idade das abelhas e da concentração do produto (AMARAL et al., 2015). Portanto, uma das possíveis causas da baixa mortalidade observada no presente trabalho é o fato da Azadiractina interferir principalmente na atividade de hormônios que regulam o processo de crescimento e metamorfose, ou seja, compromete especialmente o desenvolvimento dos insetos jovens (SCHMUTTERER, 1990; ASCHER, 1993).

Contudo, é importante salientar que foi observada uma redução na procura pelo alimento contaminado com os inseticidas a base de nim, especialmente nas concentrações do óleo comercial, o que pode prejudicar a obtenção de nutrientes e a longo prazo debilitar as operárias, comprometendo suas atividades. Schmutterer (1990) destaca que dentre os vários efeitos adversos da Azadiractina sobre os insetos está a inibição de alimentação, o que prejudica o desenvolvimento e as atividades dos indivíduos. Outros pesquisadores também destacam os efeitos repelente (NAUMAN et al., 1994) e deterrente (SAXENA; KHAN, 1985; GUPTA; BIRAH, 2001) do referido ingrediente ativo sobre insetos, o que pode explicar a redução na procura pelo alimento contaminado no presente trabalho.

Mesmo sem diferença estatística entre os inseticidas derivados do nim em relação a mortalidade, as concentrações do óleo comercial ocasionaram as maiores taxas de morte e proporcionaram redução notória na probabilidade de sobrevivência das abelhas, com o menor tempo letal mediano, ou seja, maior velocidade de mortalidade. Outros estudos já relataram que a exposição ao óleo da semente de nim reduz a sobrevivência e alimentação de operárias adultas das abelhas *A. mellifera*, *Bombus terrestris* L., *Melipona quadrifasciata* L., *Partamona hellerie* F. e *Tetragonula iridipennis* S. (MELATHOPOULOS et al., 2000; SINGH et al., 2015; BARBOSA et al., 2015; BERNARDES et al., 2017). Xavier et al. (2015) destacaram que o óleo comercial de nim causou efeito letal e subletal em larvas e adultos de *A. mellifera* na concentração de 2 ml/L. Gomes et al. (2020) também destacaram que o óleo comercial de nim, em doses recomendadas para uso no manejo de pragas, provocou redução na sobrevivência e capacidade de vôo de operárias da abelha *A. mellifera*.

Os resultados obtidos ampliam as informações acerca dos efeitos de inseticidas derivados do nim sobre a sobrevivência e comportamento da abelha *A. mellifera*,

especialmente em relação aos extratos aquosos de folhas e sementes. Além disso, os resultados reforçam a necessidade de atenção no momento de aplicação durante o período de floração, bem como podem subsidiar novas pesquisas para determinar os efeitos dos extratos aquosos e doses comerciais do óleo de nim em outros modos de exposição e em condições de campo.

5 CONCLUSÕES

- Independente da dose avaliada, os inseticidas derivados do nim foram pouco tóxicos sobre operárias adultas da abelha africanizada *A. mellifera* via ingestão.
- Os extratos aquosos de folhas e sementes de nim ocasionaram os menores percentuais de mortalidade das abelhas e apresentaram o tempo letal mediano (TL₅₀) mais próximo da testemunha absoluta.
- Foi constatada redução na procura e consumo da dieta contaminada com inseticidas derivados do nim.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- AMARAL, R. L.; VENZON, M.; FILHO, S. M.; LIMA, M. A. P. Does ingestion of nim-contaminated diet cause mortality of honey bee larvae and foragers?, **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 405-410, 2015.
- ALVES, J. E.; FREITAS, B. M. Efeito do Nim (*Azadirachta indica*) para as Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*). Risco Sobre Polinizadores e Perspectivas de Sua Utilização em Polinização. **EMBRAPA**. 2010.
- ASCHER, K. R. S. Non conventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, n. 3/4, p. 433-449, 1993.
- BARBOSA, W. F.; MEYER, L. D.; 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, 2015.
- BERNARDES, R. C.; TOMÉ, H. V. V.; BARBOSA, W. F.; GUEDES, R. N. C.; LIMA, M. A. P. Azadirachtin-induced antifeeding in Neotropical stingless bees. **Apidologie**, v. 48, n. 3, p. 275-285, 2017.
- COSTA, E. M.; ARAUJO, E.L.; MAIA, A.V.P.; SILVA, F.E.L.; BEZERRA, C.E.S.; SILVA, J. G. Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie**, v. 45, n. 1, p. 34-44, 2014.
- GARIBALDI, L. A.; CARCALHEIRO, L. G.; VAISSIERE, B. E.; GEMMILL-HERREN, B.; HIPOLITO, L.; FREITAS, B. M.; NGO, H. T.; AZZU, N.; SAEZ, A.; ASTROM, J.; AN, J.; BLOCHTEIN, B.; BUCHORI, D.; GARCIA, F. J. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. **Science**, v. 351, n. 6271, p. 388-391, 2016.
- GODFRAY, H. C. J.; BLACQUIÈRE, T.; FIELD, F. M.; HAILS, R. S.; PETROKOFISKY, G.; POTTS, S. G.; RAINE, N. E.; VANDERGEN, A. J.; MCLEAN, A. R. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. **Royal Society B**, v. 281, n. 1, 2014.
- GUPTA, G.P. & BIRAH. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.71, n. 8, p. 325, 2001.
- HEARD, M. S.; BAAS, J.; DORNE, J. L.; LAHIVE, E.; ROBINSON, A. G.; RORTAIS, A.; SPURGEON, D. J.; SVENDSEN, C.; HESKETH, H. Comparative toxicity of pesticides and environmental contaminants in bees: Are honeybees a useful proxy for wild bee species? **Science of the Total Environment**, v. 578, n. 1, p. 357-365, 2017.
- KLEIN, A. M.; FREITAS, B. M.; BOMFIM, G. A.; BOREUX, V.; FORNOFF, F.; OLIVEIRA, M. O. A. **Polinização Agrícola por Insetos no Brasil**. Maranguape, Unifreieburg, 2020.

MACIEL, F. A. O. Reconhecimento de padrões sazonais em colônias de abelhas *Apis mellifera* via clusterização. **Revista Brasileira de Computação Aplicada**, v.10, n.3, p.74–88, 2018.

MARTÍNEZ, S.S. O nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. **Iapar**. p. 142, 2002.

MELATHOPOULOS, A.P.; WINSTON, M.L.; WHITTINGTON, R.; HIGO, H.; DOUX, M. L. Field evaluation of nim and canola oil for the selective control of the honey bee (Hymenoptera: Apidae) mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae). **Journal of Economic Entomology**, v.93, n. 2, p. 559 – 567. 2000.

NAUMAN, K.; CURRIE R.W.; ISMAN, M.B. Evaluation of the repellent effects of a neem insecticide on foraging honey bees and other pollinators. **The Canadian Entomologist**, v.126, n.2, p. 225-230, 1994.

PAIXÃO, G. P. G.; SILVA, C. M.. Impactos da poluição atmosférica no processo de polinização das abelhas: cidade do Rio de Janeiro. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.12, n.3, p.90-101, 2021.

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; NOCELLI, R. C. F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J. S.; TEIXEIRA, E. W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD?. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 422 – 442, 2016.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. 2020.

ROSA, J. M.; ARIOLI, C. J.; SILVA, P. N.; GARCIA, F. R. M. Desaparecimento de abelhas polinizadoras nos sistemas naturais e agrícolas: Existe uma explicação? **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 2019.

SAXENA, R.C.; KHAN, Z.R. electronically recorded disturbances in feeding behavior of *Nephotettix virescens* (Homoptera: Cicadellidae) on neem oil-treated rice plants. **Journal of Economic Entomology**, V.78, n. 1, p. 222-226, 1985.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, n. 1, p.271-297, 1990.

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.

THERNEAU, T.; LUMLEY, T. survival: **Survival analysis, including penalised likelihood. R package version**, v.2. p. 36-2, 2010.

XAVIER, V. M.; PICANÇO, M. C.; CHEDIAK, 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, 2015.