

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

Diagnóstico dos serviços de polinização em pomares de macieira e efeito de formulações de iscas tóxicas sobre *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) em laboratório e campo

Joatan Machado da Rosa

Pelotas, 2016

JOATAN MACHADO DA ROSA

Diagnóstico dos serviços de polinização em pomares de macieira e efeito de formulações de iscas tóxicas sobre *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) em laboratório e campo.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fitossanidade (área do conhecimento: Entomologia).

Orientador: Dr. Marcos Botton

Co-Orientador: Dr. Anderson Dionei Grützmacher

Co-Orientador: Dr. Cristiano João Arioli

Pelotas, 2016

Banca examinadora:

Pesquisador Dr. Marcos Botton – Orientador
(Embrapa Uva e Vinho)

Pesquisadora Dra. Patrícia Nunes Silva
(Pontifícia Universidade Católica - RS)

Pesquisador Dr. Caio Fábio Stoffel Efrom
(Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária)

Pesquisador Dr. Sandro Daniel Nörnberg
(PPGFs/Embrapa)

Professor Dr. Flávio Roberto Mello Garcia
(Universidade Federal de Pelotas)

Aos meus pais, Jorge Danilo da Rosa e Nilda T. Machado da Rosa
e minha irmã Darlize Machado da Rosa, pelo
carinho e compreensão.

A minha esposa Lenita Agostinetto, pelo amor, apoio e carinho
durante esta caminhada.

DEDICO E OFEREÇO

Agradecimentos

Especialmente a Deus, por tudo que tem proporcionado a mim e à minha família.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da FAEM/UFPel, pela oportunidade de realizar o curso de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Dr. Marcos Botton, pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho (CNPUV), pela orientação, ensinamentos, conselhos, oportunidades oferecidas, pelo grande exemplo de profissionalismo e contribuição para meu crescimento acadêmico-científico e humano.

Ao Dr. Anderson Dionei Grutzmacher, professor do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas (DFs/FAEM/UFPel), pela co-orientação, ensinamentos e contribuição para meu crescimento acadêmico-científico e humano.

Ao Dr. Cristiano João Arioli, pesquisador da Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) pela co-orientação, amizade, apoio, ensinamentos sobre apicultura e manejo de mosca-das-frutas e de outras pragas da fruticultura.

Aos professores Dr. Alci Enimar Loeck, Dr. Anderson Dionei Grützmacher, Dr. Mauro Silveira Garcia, Dr. Dori Edson Nava, Dr. Uemerson da Silva Cunha, Dr. Flávio Roberto Mello Garcia e Dr. Marcos Botton, do PPGFs da FAEM/UFPel, pelos ensinamentos e à secretária do PPGFs Neide Ritter Quevedo por toda ajuda e atenção.

Aos meus pais Jorge Danilo da Rosa, Nilda Machado da Rosa e minha irmã Darlize Machado da Rosa, os quais têm demonstrado grande apoio, carinho, compreensão e participação em cada etapa da minha formação pessoal e profissional.

À minha esposa Lenita Agostinetto, pelo apoio e incentivo nesta caminhada, pelo auxílio emocional e amoroso quando a distância nos separava e pelos momentos especiais que juntos estamos passando.

Às minhas avós Oli e Nair (em memória) pelos ensinamentos, amizade, carinho e os belos exemplos de vida e determinação.

Ao técnico laboratorista da Epagri – EESJ, Jorge Alexandre Borges pelo apoio nas saídas de campo, avaliações, conversas informais e pela amizade construída nestes últimos anos. Aos demais pesquisadores e funcionários de campo da Epagri – EESJ pelo apoio, acolhimento e hospitalidade no período em que estive em São Joaquim, SC.

À assistente de pesquisa Vânia Sganzerla do Laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho pelo apoio e amizade.

Aos pesquisadores Dra Betina Blotchein, Dr. Caio Efrom e Dra. Luiza Rodrigues Redaelli pelos conselhos e sugestões na qualificação de doutorado.

À toda equipe do laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho: Marcos Botton, Vânia Sganzerla, Aline Nondillo, Aline Padilha, Simone Andzeiewski, Elizângela Caroline Galzer, Sabrina Lerin, Marcelo Zanelato, Ruben Machota Júnior, Lígia Caroline Bortoli, Taciana de Azevedo, e Vitor Pacheco pela ajuda, convivência e amizade.

À equipe do laboratório de Entomologia da PUCRS, Betina Blotchein, Patrícia Nunes-Silva, Jenifer Dias Ramos e Rosana Halinski pela amizade, e colaboração na condução dos trabalhos, sugestões e conselhos.

Aos meus padrinhos Nesouraide e João Luiz pela hospitalidade, acolhimento, ensinamentos e exemplo de vida que foram extremamente importantes durante o período que estive em São Joaquim, SC.

Aos colegas do PPGFS, Guilherme Liberato, Germano Tessmer Büttow, Marla Maria Marchetti, Tassiana de Azevedo, Vitor Pacheco e Emily Silva Araujo pela amizade e agradável convívio durante a realização do curso.

Aos amigos e companheiros de república Marcelo Zanelato Nunes, Carlos Jaroice, Hussein e Marcos André Nohatto pela amizade, momentos de descontração e apoio.

Aos amigos não mencionados, mas que sempre são recordados e que contribuíram para o êxito deste trabalho, o meu eterno agradecimento.

Resumo

MACHADO DA ROSA, JOATAN. **Diagnóstico dos serviços de polinização em pomares de macieira e efeito de formulações de iscas tóxicas sobre *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) em laboratório e campo.** 2016. 109f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas.

A presença de abelhas no período de florescimento dos pomares de macieiras pode ser considerada indispensável para o aumento de produção e qualidade dos frutos. Nos últimos anos, a utilização de agrotóxicos tem gerado preocupação quanto ao efeito deletério sobre polinizadores, com destaque para *Apis mellifera*, principal polinizador associado à cultura da macieira. O emprego de iscas tóxicas para suprimir populações da mosca-das-frutas Sul-americana *Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae), tem sido uma das principais estratégias utilizadas em pomares de macieiras na região sul do Brasil. Esta técnica associa um atrativo a um agente letal (inseticida) e é aplicada no interior e/ou bordadura dos pomares havendo preocupações sobre o efeito dessas formulações na população de *Apis mellifera*. Nesse trabalho, foi realizado um levantamento de informações sobre os serviços de polinização na cultura da macieira, avaliado a toxicidade de inseticidas e formulações de iscas tóxicas sobre *A. mellifera* em laboratório e avaliada a atratividade e repelência de iscas tóxicas e seus componentes no campo. As informações sobre os serviços de polinização foram obtidas nos municípios de São Joaquim (SC) e Vacaria (RS) utilizando entrevistas presenciais com questionários estruturados. Foram entrevistados 110 maleicultores e técnicos responsáveis pelos pomares entre 2013 e 2015 registrando-se: a) o sistema de produção adotado; b) emprego de serviços de polinização; c) número de colmeias por hectare na floração; d) valor do aluguel de colmeias; e) mortalidade de colônias; f) agrotóxicos aplicados na floração e, g) presença de abelhas nativas na floração. O efeito de inseticidas sobre *Apis mellifera* foi avaliado em laboratório (25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$) utilizando duas formas de exposição: a) tópica com aplicação de $1\mu\text{L}$ de cada inseticida sobre o pronoto das abelhas e b) ingestão de dieta contaminada. Os inseticidas avaliados foram: acetamiprido (Mospilan 200 SP[®] 40 g 100L^{-1}), espinosade (Tracer 480 SC[®] 20 mL 100L^{-1}), espinetoram (Delegate 25 WG[®] 30 g 100L^{-1}), fosmete (Imidan 500 WP[®] 200 g 100L^{-1}), malationa (Malathion 1000 EC[®] 150 mL 100L^{-1}), metidationa (Suprathion 400 EC[®] 100 mL 100L^{-1}), e as iscas tóxicas de pronto uso contendo espinosade (Success 0,02 CB[®]) (1:1,5 de água), e alfacipermetrina (Gelsura[®]) (1:2 de água). Nos dois métodos de exposição, os inseticidas avaliados foram classificados segundo a “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants” (IOBC). Os sintomas de intoxicação e a mortalidade foram registrados até 72 horas após a exposição. Em campo, foram conduzidos experimentos com e sem chance de escolha para avaliar a atratividade e repelência de iscas tóxicas e seus

componentes sobre *A. mellifera*. Estações artificiais de forrageamento foram desenvolvidas e instaladas a 30 metros do apiário da Estação Experimental Epagri/EESJ, SC. Dois dias antes do início dos testes as abelhas passaram por um treinamento para reconhecimento do local. Os tratamentos avaliados foram: Anamed[®], Biofruit[®] (3%), Flyral[®] (1,25%) e melão de cana-de-açúcar (7%), testados com e sem o inseticida Malathion 1000 CE[®] (0,15%), e as formulações de pronto uso Success 0,02 CB[®] (1:1,5 de água) e Gelsura[®] (1:2 de água). As avaliações das visitas às estações foram feitas a cada 10 minutos através de fotografias, com nove tomadas diárias de imagens para cada tratamento, o número de visitas às iscas foi contado em cada intervalo e em cada tratamento. Em São Joaquim e Vacaria, a maioria dos produtores (68,6% e 70%) utiliza a produção integrada de maçãs (PIM) como sistema de produção. A polinização dirigida é utilizada por 90,1% e 100% dos entrevistados respectivamente, dos quais 51% e 80% optam pelo aluguel de colmeias. Em média, são utilizadas três colmeias por hectare nas duas regiões. O custo médio de aluguel foi de R\$ 57,30 e R\$ 56,60 por colmeia em Vacaria e São Joaquim, respectivamente. Durante a floração, agrotóxicos foram utilizados por 100% e 97,2% dos entrevistados. O maior percentual médio de mortalidade de colônias na floração (14,8%) foi relatado em Vacaria durante a florada de 2014. Em laboratório, foi observado que, independente do modo de exposição, alfacipermetrina (isca tóxica Gelsura[®]) e malationa foram altamente tóxicos, assim como metidationa via aplicação tópica. Espinetoram e espinosade foram levemente nocivos em aplicação tópica e moderadamente nocivos quando oferecidos em dieta contaminada. Os inseticidas acetamiprido, fosmete e a isca tóxica de pronto uso Success (0,02 CB)[®] foram levemente nocivos à *A. mellifera* nas duas formas de exposição. Nos testes de campo, a isca tóxica de pronto uso Gelsura[®] e o Anamed[®] com e sem a adição do inseticida Malathion foram repelentes a *A. mellifera*. Nos experimentos com e sem chance de escolha, componentes e iscas tóxicas de pronto uso não foram atrativos ao forrageio por *A. mellifera*. Conclui-se que os serviços de polinização, através do aluguel de colmeias de *A. mellifera*, são adotados pela maioria dos maleicultores, empregando em média três colmeias por hectare no período de floração da macieira. Inseticidas utilizados na formulação de iscas tóxicas apresentaram diferentes níveis de toxicidade em laboratório. Em campo, os atrativos Anamed[®], Biofruit[®] (3%), Flyral[®] (1,25%) e melão de cana-de-açúcar (7%), testados com e sem o inseticida Malathion 1000 CE[®] (0,15%), bem como as formulações de pronto uso Success 0,02 CB[®] e Gelsura[®] utilizadas para controle de *A. fraterculus*, não são atrativas ao forrageio por *A. mellifera*. O atrativo Anamed[®] e a isca tóxica de pronto uso Gelsura[®] são repelentes a *A. mellifera*.

Palavras-chave: *Malus domestica*. Apidae. Serviços de polinização. Toxicidade. Atratividade. Repelência.

Abstract

MACHADO DA ROSA, JOATAN. **Diagnosis of pollination services on apple tree orchards and the effect of toxic bait formulations on *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) in the laboratory and field.** 2016. 109f. Thesis (Doctorate Degree) – Plant Protection Graduate Program. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The presence of bees during the flowering in apple orchards may be regarded essential to increase the production and the fruit quality. Over the last years, the use of pesticides has created some concern as to their deleterious effect on pollinators, especially *Apis mellifera*, the main pollinator associated to the apple crop. The toxic baits used to suppress populations of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae) has been one of the main strategies used on apple orchards in the South region of Brazil. This technique associates an appealing factor to a lethal agent (insecticide) and it is applied within and/or on the borders of the orchards, therefore, there is some concern on the effect of these formulations on the population of *Apis mellifera*. On this study, information was gathered regarding the pollination services on the apple tree culture. The toxicity of insecticides and commercial toxic baits was evaluated on *A. mellifera* under laboratory conditions. Finally, we evaluated the attractiveness and repellence of toxic baits and their components on *A. mellifera* in the field. The information on pollination services was obtained from the municipalities of São Joaquim (SC) and Vacaria (RS), using in-person interviews with structured questionnaires. Interviews were conducted with 110 apple producers and technicians responsible for the orchards between 2013 and 2015, and the following aspects were recorded: a) the production system adopted; b) use of pollination services; c) number of hives per hectare during flowering; d) renting value of the hives; e) mortality of colonies; f) pesticides applied during flowering, and g) presence of native bees during flowering. The effect of insecticides on *Apis mellifera* was evaluated in the laboratory (25 ± 2 °C, RH: $70 \pm 10\%$) using two exposure methods: a) topical exposure, with the application of 1 μ L of each insecticide on the pronotum of the bees, and b) ingestion of a contaminated diet. The evaluated insecticides were: acetamiprid (Mospilan 200 SP[®] 40 g 100L⁻¹), spinosad (Tracer 480 SC[®] 20 mL 100L⁻¹), spinetoram (Delegate 25 WG[®] 30 g 100L⁻¹), phosmet (Imidan 500 WP[®] 200 g 100L⁻¹), malathion (Malathion 1000 EC[®] 150 mL 100L⁻¹), methidathion (Suprathion 400 EC[®] 100 mL 100L⁻¹), and ready-to-use toxic baits containing spinosad (Success 0.02 CB[®]) (1:1.5 of water) and alpha-cypermethrin (Gelsura[®]) (1:2 of water). On both exposure methods, the evaluated insecticides were classified according to the International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC). The intoxication and mortality symptoms were recorded up to 72 hours after the exposure. In the field, choice and no-choice experiments were conducted in order to evaluate the attractiveness and repellence of toxic baits and their components on *A. mellifera*.

Artificial foraging stations were developed and installed 30 meters away from the apiary of the Epagri Experimental Station/EESJ, SC. Two days before the beginning of the tests, the bees underwent training in order to recognize the location. The evaluated treatments were: Anamed[®], Biofruit[®] (3%), Flyral[®] (1.25%) and sugar cane molasses (7%), tested with and without the insecticide Malathion 1000 CE[®] (0.15%), and the ready-to-use formulations Success 0.02 CB[®] (1:1.5 of water) and Gelsura[®] (1:2 of water). The evaluations of the visits to the stations were conducted at every 10 minutes through photographs, with nine daily takes of images for each treatment; the number of visits to the baits was counted at every interval and at every treatment. In São Joaquim and Vacaria, most producers (68.6% and 70%) use the Integrated Production of Apples (PIM) as their production system. Directed pollination is used by 90.1% and 100% of the interviewees, respectively, from which 51% and 80% opt to rent hives. On average, three hives are used per hectare on both regions. The average renting cost is U\$ 17.74 and U\$ 17.52 per hive in Vacaria and São Joaquim, respectively. During flowering, pesticides were used by 100% and 97.2% of the interviewees. The highest mean percentage of mortality of colonies during flowering (14.8%) was reported in Vacaria in 2014. In the laboratory, it was observed that, regardless of the method of exposure, alpha-cypermethryn (toxic bait Gelsura[®]) and malathion were highly toxic, as well as methidathion, through topical application. Spinetoran and spinosad were slightly harmful through topical application, and moderately harmful when offered through a contaminated diet. The insecticides acetamiprid and phosmet and the ready-to-use toxic bait Success (0.02 CB)[®] were slightly harmful to *A. mellifera* under both exposure methods. On in-field tests, the ready-to-use toxic bait Gelsura[®] and Anamed[®] with and without the addition of the insecticide Malathion had a repelling effect on *A. mellifera*. On the choice and no-choice experiments, components and ready-to-use toxic baits were not appealing to foraging by *A. mellifera*. It is concluded that the pollination services, through the rent of hives of *A. mellifera*, are used by most apple producers, using on average three hives per hectare during the flowering period of the apple tree. Insecticides used on the formulation of toxic baits showed different toxicity levels in the laboratory. In the field, the appealing substances Anamed[®], Biofruit[®] (3%), Flyral[®] (1.25%) and sugar cane molasses (7%), tested with and without the insecticide Malathion 1000 CE[®] (0.15%), as well as the ready-to-use formulations Success 0.02 CB[®] and Gelsura[®] used to control *A. fraterculus* are not appealing to foraging by *A. mellifera*. Anamed[®] and the ready-to-use toxic bait Gelsura[®] have a repellent effect on *A. mellifera*.

Keywords: *Malus domestica*. Apidae. Pollination services. Toxicity. Attractiveness. Repellence.

Lista de Figuras

Artigo 02

- Figura 1. Mortalidade (%) de *Apis mellifera* após a aplicação tópica de inseticidas e iscas tóxicas de pronto uso utilizadas na cultura da macieira..... 69
- Figura 2. Mortalidade (%) de *Apis mellifera* após o fornecimento de dieta contaminada com os inseticidas utilizados em formulações de iscas tóxicas..... 70

Artigo 03

- Figura 1. Estação artificial de forrageamento (A). Placa de aplicação utilizada em teste de repelência (B). Tomada de imagens (C). Reposição do alimento consumido com pistola graduada (D)..... 99
- Figura 2. Estação artificial usada para avaliações de atratividade (A). Em destaque, tira de tecido TNT usada para aplicação dos tratamentos e contagem de abelhas (B)..... 100
- Figura 3. Número médio de visitas de *A. mellifera* em cada momento de imagem sobre estações artificiais de forrageamento contendo ingredientes e formulações de iscas tóxicas associadas ao inseticida malationa (Malathion 1000 CE 1,5 mL/L). Marcadores preenchidos apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). São Joaquim, janeiro e fevereiro de 2014 e 2015..... 101

Lista de tabelas

Artigo 01

- Tabela 1. Sistemas de cultivo empregados em pomares de macieiras nas regiões de São Joaquim, SC e Vacaria, RS..... 39
- Tabela 2. Perfil das regiões produtoras de maçã quanto ao uso de colmeias de *Apis mellifera* para os serviços de polinização, ao valor aluguel das colmeias e ao índice de satisfação quanto ao uso de polinização dirigida..... 39
- Tabela 3. Percentual de maleicultores e técnicos entrevistados que relataram perdas de colmeias e percentual médio de perdas nas regiões de São Joaquim, SC e Vacaria, RS, durante os períodos de floração das safras 2013/14 e 2014/15..... 40
- Tabela 4. Conhecimento de maleicultores e técnicos entrevistados em São Joaquim, SC e Vacaria, RS sobre abelhas nativas e a sua importância durante o período de florescimento da cultura da macieira..... 40

Artigo 02

- Tabela 1. Descrição dos inseticidas, iscas tóxicas e doses avaliadas quanto à toxicidade sobre *Apis mellifera* em laboratório..... 65
- Tabela 2. Mortalidade de *Apis mellifera* corrigida através da equação de Abbott (1925) para aplicação tópica dos inseticidas e ingestão de dieta contaminada..... 66

Tabela 3.	Tempos letais (em horas) de inseticidas e iscas tóxicas de pronto uso após a aplicação tópica sobre <i>Apis mellifera</i> em laboratório.....	67
Tabela 4.	Tempos letais em horas após o oferecimento de dieta contaminada com inseticidas e iscas tóxicas de pronto uso à <i>Apis mellifera</i>	68

Artigo 03

Tabela 1.	Atividade de alimentação de <i>Apis mellifera</i> nas estações de forrageamento contendo iscas tóxicas e seus componentes. Consumo médio de mel por dia de avaliação.....	96
Tabela 2.	Número médio de visitas de <i>Apis mellifera</i> nas estações de forrageamento em teste de atratividade com chance de escolha. São Joaquim, janeiro e fevereiro de 2014 e 2015.....	97
Tabela 3.	Número médio de visitas de <i>Apis mellifera</i> às estações artificiais de forrageamento em teste sem chance de escolha. São Joaquim, janeiro de 2016.....	98

Sumário

Introdução Geral.....	17
Artigo 01 - Diagnóstico dos serviços de polinização em pomares de macieiras no sul do Brasil.....	24
Resumo.....	25
Abstract.....	25
Introdução.....	26
Material e Métodos.....	28
Resultados e Discussão.....	29
Conclusões.....	35
Agradecimentos.....	36
Referências.....	36
Tabelas.....	49
Anexo 1.....	41
Artigo 02 - Toxicidade de inseticidas e iscas tóxicas utilizadas para o controle de mosca-das-frutas sobre abelhas melíferas.....	42
Resumo.....	43
Abstract.....	44
Introdução.....	45
Material e Métodos.....	47
Resultados e Discussão.....	51
Conclusões.....	57
Agradecimentos.....	58
Referências.....	58
Tabelas e figuras.....	65

Artigo 03 - Repelência e atratividade de iscas tóxicas usadas no controle de moscas-das-frutas sobre o forrageamento de <i>Apis mellifera</i>.....	71
Resumo.....	73
Abstract.....	74
Introdução.....	75
Material e Métodos.....	78
Resultados.....	83
Discussão.....	86
Agradecimentos.....	89
Referências bibliográficas.....	89
Tabelas e figuras.....	96
Conclusões.....	102
Referências.....	103

Introdução geral

As abelhas constituem o grupo economicamente mais importante de polinizadores em todo o mundo (ABROL, 2012). De acordo com Ollerton et al., (2011), cerca de 87,5% dos vegetais com flores dependem da polinização realizada por algum tipo de animal, sendo as abelhas reconhecidas como os principais agentes nesse processo. Aproximadamente 35% da produção mundial de alimentos dependem de polinizadores e as abelhas colaboram de maneira expressiva, atuando como agentes de polinização em aproximadamente 75% das espécies vegetais cultivadas no mundo, possibilitando o aumento de 85% da produtividade em culturas que dependam de animais para a polinização (KLEIN et al., 2007).

A interação entre as abelhas e plantas garantiu aos vegetais o sucesso na polinização cruzada, que se constituiu numa importante adaptação evolutiva das plantas, aumentando o vigor das espécies, possibilitando novas combinações de fatores hereditários e aumentando a produção de frutos e sementes (KLEIN et al., 2007).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com um volume anual de 43 milhões de toneladas (ABF, 2016). Neste contexto, entre as frutíferas de clima temperado, a macieira *Malus domestica* Bork é a que apresentou maior expansão em área de cultivo e em volume de produção nos últimos trinta anos (PETRI et al., 2011).

O cultivo da macieira na região Sul do Brasil teve início há mais de cinquenta anos, sendo um dos principais setores da agricultura catarinense e gaúcha (MOTTA, 2010). A área cultivada com macieira ocupa 36.576 hectares, sendo os municípios de Vacaria (RS) com 7.092 hectares no Estado do Rio Grande do Sul e São Joaquim (SC) com 8.325 hectares no Estado de Santa Catarina, responsáveis por

41,4% da produção brasileira de maçãs, além de possuírem, conjuntamente, em torno de 42,1% do total da área cultivada no Brasil (IBGE, 2015).

As plantas de macieira possuem flores autoincompatíveis, por isso necessitam da presença de plantas de duas ou mais cultivares nos pomares para que ocorra polinização cruzada (ORTH, 2012). Na cultura, a presença de polinizadores capazes de realizar o transporte de pólen entre as cultivares, é fundamental uma vez que as plantas não apresentam mecanismos próprios para essa transferência (GARRAT et al., 2014).

Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) é o principal agente responsável pelos serviços de polinização dirigida na cultura da macieira no Brasil (ORTH, 2012, SALOMÉ, 2014). Isso se deve à sua ampla distribuição geográfica, facilidade de criação e manejo, grande quantidade de abelhas campeiras por colmeia e sua capacidade de visitar um número elevado de flores a cada dia de trabalho (PATRON, 2010). Segundo Paudel et al. (2015), este polinizador é responsável por até 100% da fertilização das flores da macieira, sendo fundamental para o manejo da cultura.

A presença destes polinizadores nos pomares não determina apenas o aumento de produtividade, mas também refletem na qualidade, simetria e valor de mercado dos frutos (SHEFFIELD, 2014). Esta afirmação foi corroborada por Losey e Vaugan (2006) em estudos conduzidos na cultura da macieira nos Estados Unidos onde foi atribuído à polinização por *Apis mellifera* um incremento médio de US\$ 1,42 bilhões no valor da produção de maçãs no período de 2001 a 2003.

No Brasil, é estimado o aluguel de mais de 100 mil colônias de *A. mellifera* para a polinização de maçã, gerando receita de cerca de R\$ 4 milhões ao ano (FREITAS; NUNES-SILVA, 2012). Freitas e Imperatriz-Fonseca (2005) estimaram que, em Santa Catarina, são alugadas, de apicultores, entre 45 e 50 mil colmeias/ano para atender a cadeia produtiva da maçã no Estado. Essa parceria (apicultor x fruticultor) também possibilita um retorno aos apicultores de aproximadamente dois milhões de reais/ano.

A existência de polinizadores em quantidade e diversidade capazes de promover a xenogamia é um fator decisivo na produtividade dos pomares (MCGREGOR, 1976). Contudo, em diversas regiões ao redor do mundo, as populações de *A. mellifera* estão sendo reduzidas a níveis abaixo dos quais podem

sustentar serviços de polinização adequados em agroecossistemas (BREEZE et al., 2014). Como possíveis causas deste declínio, pode-se destacar a fragmentação e/ou alteração do habitat, plantio em monocultura, diminuição da oferta de alimento e/ou locais de refúgio. Entretanto, o uso abusivo de agrotóxicos é considerado o recurso tecnológico mais impactante para os polinizadores (KEARNS; INOUE, 1997; DEVINE; FURLONG, 2007; PETTIS, 2013).

Na cultura da macieira, o uso de inseticidas é realizado rotineiramente (EPAGRI, 2006), já que a incidência de pragas têm sido um dos principais fatores limitantes à produção (NORA; HICKEL, 2006). Dentre estes fatores, destaca-se a incidência da mosca-das-frutas Sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) (KOVALESKI et al., 2000; TEIXEIRA et al., 2011; GARCIA; NORRIBOM, 2011, TEIXEIRA et al., 2015; BOTTON et al., 2016). Além dos danos diretos que reduzem a quantidade e a qualidade dos frutos destinados ao comércio (NORA; HICKEL, 2006), a presença do inseto dificulta a exportação devido a restrições previamente acordadas entre os países importadores (BORGES, 2011).

A pulverização de inseticidas organofosforados nos pomares para o controle de populações de *A. fraterculus* tem sido realizada com resultados efetivos por mais de 40 anos, sem haver casos relatados de seleção de populações resistentes (SALLES; KOVALESKI, 1990; KOVALESKI; RIBEIRO, 2003; SCOZ et al., 2004; NAVA; BOTTON, 2010). Entretanto, este grupo químico caracteriza-se por apresentar elevada toxicidade, baixa seletividade aos inimigos naturais e insetos polinizadores, além de grande período de carência (LORENZATO, 1988; SALLES, 1990; SALLES, 1995; SCOZ et al., 2004; NAVA; BOTTON, 2010) levando a uma preocupação crescente sobre os efeitos tóxicos dos resíduos sobre os insetos não alvo que frequentam os pomares e áreas adjacentes.

Com o aumento das exportações de maçãs brasileiras, mercados internacionais exigiram o estabelecimento de um sistema de produção mais eficiente e racional quanto ao uso de agroquímicos, com garantias à sustentabilidade ambiental e segurança à saúde humana, sendo assim implantado o Sistema de Produção Integrada de Maçãs – PIM, programa pioneiro no Brasil (PROTAS; VALDEBENITO-SANHUEZA, 2003). Uma das preocupações da PIM é estabelecer normas técnicas de produção para que a maçã brasileira mantenha-se competitiva no mercado internacional, visto que a Comunidade Européia determina anualmente

os princípios ativos permitidos e os limites de resíduos de agroquímicos tolerados nos frutos comercializados naqueles países (BORGES, 2011). Essas barreiras são atualmente a principal preocupação do setor produtivo, especialmente com relação às restrições aos inseticidas utilizados na produção da fruta. Tais restrições forçaram o setor produtivo a buscar alternativas de manejo das pragas da macieira, anteriormente baseado no emprego de inseticidas fosforados, carbamatos e piretróides pulverizados em área total no pomar (HICKEL, 2008; KOVALESKI; SANTOS, 2008).

O uso de iscas tóxicas tem sido preconizado como um dos métodos de Manejo Integrado de Pragas (MIP) para o controle de moscas-das-frutas, em diferentes regiões do mundo (STARK et al., 2004; CHUECA et al., 2007; RUIZ et al., 2008; BORGES et al., 2015; BOTTON et al., 2016). Diversos ingredientes estão sendo recomendados para elaboração de iscas tóxicas no Brasil, e estas podem conter ingredientes atraentes como substâncias açucaradas, componentes proteicos e substâncias atrativas voláteis (HÄRTER et al., 2015; BORGES et al., 2015).

Na maioria das vezes, as iscas tóxicas são formuladas na propriedade misturando proteína hidrolisada ou melaço de cana-de-açúcar com inseticidas, geralmente organofosforados (RAGA, 2006; HÄRTER et al., 2010; BOTTON et al., 2016). Um novo atrativo alimentar, Anamed[®] (Isca Tecnologias, SP, Brasil) também tem sido utilizado para o controle de moscas-das-frutas principalmente na cultura da macieira (BORGES et al., 2015). Este atrativo possui a tecnologia de liberação SPLAT[®] - Specialized Pheromone & Lure Application Technology (FALEIRO et al., 2016), composto por atrativos proteicos identificados pela Empresa, havendo no entanto, a necessidade de associar um agente letal à formulação.

Isclas tóxicas comerciais de pronto uso também estão sendo utilizadas no Brasil, com destaque para o Success 0,02 CB[®], conhecido internacionalmente como GF-120 (PROKOPY et al., 2004; MANGAN; MORENO, 2009), o qual possui o inseticida espinosade na sua formulação misturado à compostos fagoestimulantes, atrativos alimentares à base de proteínas, entre outros componentes (MANGAN; MORENO, 2004). A isca tóxica de pronto uso Gelsura[®] recentemente foi introduzida no mercado. Esta isca é composta de gel concentrado em uma matriz de polímeros superabsorventes com atraente alimentício, paraferomônio e o piretroide alfacipermetrina como agente letal (RUIZ, 2013).

Por serem utilizadas em pequeno volume por hectare, e também por ser aplicada em pontos específicos dos pomares, a tecnologia de isca tóxica possibilita uma chance menor de contaminação de insetos benéficos, como os polinizadores (CABRERA-MARÍN et al., 2016). Outras vantagens significativas são a aplicação em menor área, controle da população no início da infestação, redução de dano por evitar as posturas das fêmeas de *A. fraterculus* e menor risco de contaminação dos frutos por resíduos, visto que o jato é dirigido ao tronco e folhas das plantas (NAVA; BOTTON, 2010).

Os dois fatores principais que devem ser considerados na escolha dos atrativos para formulação de iscas tóxicas são: a capacidade atrativa, favorecendo a aproximação do inseto até a isca tóxica, e a capacidade fagoestimulante ou resposta alimentar (MORENO; MANGAN, 2002; VARGAS et al., 2002), ampliando o consumo da isca e permitindo uma intoxicação rápida dos insetos alvo. Outra característica desejável dos atrativos empregados para manejo de mosca-das-frutas é a especificidade/seletividade, preservando os inimigos naturais e polinizadores (GRAVENA, 2005).

As abelhas são de particular interesse, pois entram em contato com vários poluentes durante a atividade de forrageamento, tornando-se um agente perfeito em estudos e bioensaios para o monitoramento da toxicidade de pesticidas, tanto em áreas urbanas, como em áreas rurais (SMITH; WILCOX, 1990). O efeito drástico de agrotóxicos, em particular de inseticidas, não se limita à morte de organismos não alvo, mas também está relacionado com o comportamento anormal o qual eles podem induzir. Da mesma forma, Malaspina et al., (2008) relataram que não são apenas os efeitos de toxicidade aguda que podem provocar a morte das abelhas, os inseticidas podem também favorecer alterações comportamentais nos indivíduos, que ao longo do tempo, acarretarão em sérios prejuízos na manutenção e desenvolvimento da colônia.

A. mellifera é considerada um organismo interessante para o desenvolvimento de experimentos toxicológicos principalmente devido à sua facilidade de criação, manipulação e homogeneidade dos indivíduos na colônia (DELLIVERS, 2002). Além disso, este autor destaca que todos os inseticidas utilizados na agricultura deveriam ser avaliados sobre abelhas e classificados para estimar sua ecotoxicologia, empregando diferentes metodologias, conforme o objetivo do estudo.

Protocolos criados por agências européias (OECD, 1998a, b; OEPP/EPPO, 1992, 1993) e pela agência americana de proteção ambiental (US EPA, 1996a, b), têm sido utilizados para a condução de experimentos toxicológicos sobre *A. mellifera* e também para a concessão de novos registros de produtos fitossanitários.

Com o objetivo de identificar produtos fitossanitários seletivos para artrópodes benéficos, foi desenvolvido o grupo de trabalho em pesticidas e organismos benéficos (Working Group of Pesticides and Beneficial Organisms) pela “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC), West Palaearctic Regional Section (WPRS). Por anos, este grupo tem trabalhado com o objetivo de padronizar metodologias de pesquisa principalmente na área de seletividade de produtos químicos à insetos não-alvo (IOBC, 2016). Além disso, o uso destes protocolos devem fornecer meios pelos quais os agrotóxicos podem ser classificados pelo seu efeito sobre organismos benéficos e testes com pesticidas podem ser comparados em todas as regiões do mundo (BELLOWS, 1999).

Segundo critérios da IOBC, organismos benéficos também podem ser avaliados em laboratório e separados por classes de toxicidade como: 1) inócuo (mortalidade < 30%), 2) levemente nocivo (>30% e < 79%), 3) moderadamente nocivo (> 80% e < 99%), e 4) nocivo (> 99%) (HASSAN et al, 1985; HASSAN et al, 1994). Segundo os autores, testes de semi-campo e campo são o segundo passo para avaliar a toxicidade de diferentes agrotóxicos sobre organismos benéficos.

O desenvolvimento de novas metodologias para a avaliação da repelência e atratividade da isca tóxica GF-120 sobre abelhas nativas e domesticadas (MANGAN; MORENO 2009; GÓMEZ-ESCOBAR et al., 2014; CABRERA-MARÍN et al., 2015), podem servir como base para novas pesquisas comportamentais em nível de campo. Dessa forma, será possível avaliar se os atrativos e iscas tóxicas não comerciais, preparadas pelos agricultores, podem estar incitando o recrutamento e forrageamento por parte dos polinizadores em pomares brasileiros.

Isclas tóxicas não são aplicadas em período de floração onde a presença intensa de polinizadores é registrada. Existe a necessidade de frutos em desenvolvimento para que as moscas-das-frutas sejam atraídas de uma área de mata nativa para os pomares de macieiras. Entretanto, muitos fruticultores alocam colmeias e apiários no entorno de seus pomares em período pós-floração. Em

hipótese, este momento pode ser propenso à intoxicação de abelhas forrageiras e das colônias próximas às áreas de pomares onde ocorrem as aplicações de iscas tóxicas. A redução das populações de *A. mellifera* associadas à pomares de macieiras podem provocar uma grande perda em termos ambientais e também se refletir no rendimento e qualidade dos frutos que ficarão comprometidos na ausência deste importante polinizador. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho, foi realizar um levantamento de informações sobre os serviços de polinização na cultura da macieira, avaliar a toxicidade de inseticidas e formulações de iscas tóxicas sobre *A. mellifera* em condições de laboratório e avaliar a atratividade e repelência de iscas tóxicas e seus componentes em condições de campo.

ARTIGO 1 – Chilean Journal of Agricultural Research

Versão em português

**DIAGNÓSTICO DOS SERVIÇOS DE POLINIZAÇÃO EM POMARES DE
MACIEIRAS NO BRASIL**

JOATAN MACHADO DA ROSA; CRISTIANO JOÃO ARIOLI; BETINA BLOCHTEIN;
ANDERSON DIONEI GRÜTZMACHER; MARCOS BOTTON.

Diagnóstico dos serviços de polinização em pomares de macieiras no Brasil

Diagnosis of pollination services in apple orchards in Brazil

Joatan M. da Rosa^{1*}, Cristiano J. Arioli², Betina Blochtein³, Anderson D. Grutmacher¹, and Marcos Botton⁴

¹Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Departamento de Fitossanidade, 354, CEP 96010-900, Pelotas, Brasil, *Corresponding author joatanmachado@gmail.com.

²Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão rural – Epagri, Laboratório de Entomologia, rua João Araújo Lima, 102, CEP 88600-000, São Joaquim, Brasil.

³Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Departamento de Biociências, Av. Ipiranga, 6681, CEP 90619-900, Porto Alegre, Brasil.

⁴Embrapa Uva e vinho, Laboratório de Entomologia, rua Livramento, 515, CEP 95700-000, Bento Gonçalves, Brasil.

RESUMO

Os serviços de polinização realizados por *Apis mellifera* são fundamentais para a produção de maçãs com qualidade. O objetivo deste estudo foi caracterizar e diagnosticar os serviços de polinização utilizados nos municípios São Joaquim, SC e Vacaria, RS, principais centros produtores de maçãs no Brasil. Entrevistas presenciais com questionários estruturados foram realizadas junto aos maleicultores e técnicos responsáveis pelos pomares entre 2013 e 2015. As informações obtidas foram: a) sistema de cultivo adotado; b) emprego de serviços de polinização; c) número de colmeias por hectare na floração; d) valor do aluguel de colmeias; e) mortalidade de colônias; f) insumos químicos utilizados na floração; g) presença de abelhas nativas na floração. Em São Joaquim e Vacaria, 68,6% e 70% dos maleicultores utilizam a Produção Integrada de Maçã como modelo produtivo. A polinização dirigida é utilizada por 90,1% e 100% dos entrevistados respectivamente, dos quais 51% e 80% optam pelo aluguel de colmeias. Em média, são utilizadas três colmeias por hectare em ambas as regiões. O custo médio é de R\$ 57,30 (US\$ 17.74) e R\$ 56,60 (US\$ 17.52) por colmeia, respectivamente.

Durante a floração, agrotóxicos foram utilizados por 97,2% e 100% dos entrevistados. O maior percentual médio de mortalidade de colônias durante a floração foi relatado em Vacaria, 14,8%. Abelhas nativas são frequentemente observadas na floração. É imprescindível o desenvolvimento de estratégias de manejo para a conservação de polinizadores domésticos e silvestres.

Palavras-chave: *Malus domestica*, *Apis mellifera*, diagnóstico da polinização, entrevistas.

ABSTRACT

The pollination services performed by *Apis mellifera* are essential for apple production with quality. The aim of this study was to characterize and diagnose the pollination services used in the municipalities São Joaquim, SC and Vacaria, RS, main apple producing regions in Brazil. Semi-structured interviews were conducted with apple growers and technicians responsible for the orchards during 2013 and 2015. The obtained information were: a) cropping systems; b) use of pollination services; c) number of hives per hectare during flowering; d) renting hives value; e) mortality of colonies; f) agrochemicals used during flowering; g) presence of native bees on flowering. In São Joaquim and Vacaria, respectively, 68.6% and 70% of apple growers use the Integrated Apple Production as a production model. The directed pollination is used by 90.1% and 100% of respondents respectively, of which 51% and 80% opt to rent hives. On average, three hives were used per hectare in both regions. The average cost is US\$ 17.74 and US\$ 17.52 per hive, respectively. During the flowering period, insecticides and fungicides are used by 97.2% and 100% of apple growers. The highest mean percentage of colonies mortality during the flowering was reported in Vacaria, 14.8%. Native bees are often found in apple flowers. The development of management strategies for conservation of domestic and wild pollinators is essential.

Key words: *Malus domestica*, *Apis mellifera*, pollination diagnosis, interview.

INTRODUÇÃO

Dentre as frutíferas de clima temperado cultivadas no Brasil, a macieira *Malus domestica* Bork. apresentou a maior expansão em área e volume de produção nos últimos trinta anos (Petri et al., 2011). Atualmente, os pomares ocupam 36.576 hectares, sendo os municípios de São Joaquim com 8.325 hectares no Estado de Santa Catarina e Vacaria com

7.092 hectares no Estado do Rio Grande do Sul, responsáveis por 41,4% da produção brasileira de maçãs, além de possuírem, conjuntamente, em torno de 42,1% do total da área cultivada no Brasil (IBGE, 2015).

A garantia de boas produções em pomares comerciais de macieira depende de uma polinização eficiente, que também está relacionada com a compatibilidade de pólen-estigma e com a coincidência de época de floração (Kvitschal et al., 2013), bem como na presença indispensável das abelhas (Viana et al., 2014). Segundo Abrol (2012), o valor da abelha como um polinizador é muito maior do que o seu valor como um produtor de mel. Esta afirmação foi corroborada por Losey e Vaugan (2006), os quais atribuíram à polinização por *Apis mellifera* e abelhas nativas, um incremento médio do valor da produção de US\$ 1,58 bilhão somente na cultura da macieira durante 2001 e 2003. Contudo, observa-se que algumas populações de polinizadores estão em declínio podendo inviabilizar atividades agrícolas e provocar sérios prejuízos econômicos (Potts et al., 2010).

Os serviços de polinização são conhecidos por oferecer benefícios substanciais para a agricultura e conseqüentemente, para as populações humanas (Breeze et al., 2011). Na cultura da macieira observa-se um exemplo de interação obrigatória, na qual, a dependência por abelhas para a polinização das flores e desenvolvimento dos frutos pode chegar a 100% Losey e Vaughan (2006). A polinização efetiva de flores de macieiras não resulta apenas em aumento na produtividade (Salomé, 2014), mas também na qualidade, uma vez que os frutos com deficiência de polinização apresentam formato irregular e reduzido valor de mercado (Abrol, 2012).

Nos últimos anos foi registrado um aumento na produtividade dos pomares de macieiras que resultou em maior volume produzido sem incremento na área cultivada. Ao se comparar as safras 2001/2 e 2014/15, enquanto que a área plantada aumentou em torno de 28,7% (26 mil para 36,5 mil hectares) a produtividade cresceu 50% (650 mil para 1,3 milhões de toneladas), gerando um valor total de produção de aproximadamente 1 bilhão de reais/ano (IBGE, 2015). O aumento da produtividade nos pomares está associado à utilização de novas cultivares, densidade de plantas, técnicas e práticas avançadas de cultivo (Petri et al., 2011). Embora a constatação do incremento na produtividade dos pomares, as recomendações do manejo de polinizadores não foram alteradas com o passar do tempo.

Segundo Lebuhn et al. (2013), têm-se dado ênfase à programas de diagnósticos e monitoramento em nível global para examinar a situação dos polinizadores, seu manejo e níveis de declínio das espécies responsáveis pelos serviços de polinização. Essas informações

são fundamentais para conhecer os cenários, propor estratégias e recomendações adequadas ao manejo de polinizadores domésticos e nativos nos diferentes cultivos.

Este trabalho teve como objetivo diagnosticar, analisar e disponibilizar informações sobre a situação atual das duas principais regiões produtoras de maçãs no Brasil, quanto aos serviços de polinização, mortalidade, manejo de colmeias domesticadas e presença de abelhas nativas, além de discutir e propor estratégias de manejo e de conservação destes insetos.

MATERIAL E MÉTODOS

As informações sobre os serviços de polinização na cultura da macieira foram obtidas durante dois períodos: safra 2013/2014 (dezembro de 2013 a maio de 2014) e safra 2014/2015 (dezembro de 2014 a junho de 2015), nos municípios de Vacaria, RS (28°30'44"S, 50°56'02"W e 971 m de altitude) e São Joaquim, SC (28°16'33"S, 49°56'12"W e 1,406 m de altitude). Nestes períodos, foram entrevistados 110 agricultores/proprietários e responsáveis técnicos de estabelecimentos produtivos (40 em Vacaria e 70 em São Joaquim) empregando questionários estruturados para a obtenção das informações junto aos entrevistados (Anexo 1). As regiões de Vacaria e São Joaquim foram selecionadas, pois, além de representarem boa parte da área plantada de pomares de macieiras no Brasil, são referências na produção com alta tecnologia, além disso, possuem desde pomares conduzidos pela agricultura familiar até pomares conduzidos por grandes grupos empresariais.

Para a identificação dos agricultores e estabelecimentos que representassem de forma significativa a situação dos serviços de polinização na cultura, foram consultados integrantes de entidades ligadas ao setor da maleicultura. Entre esses estão: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri); Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Uva e Vinho); Associação dos Produtores de Maçã e Pera de Santa Catarina (AMAP); Associação Brasileira dos Produtores de Maçã (ABPM); Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã (Agapomi); Associação dos Engenheiros Agrônomos da Serra Catarinense (ASSEA); Cooperativa Agrícola de São Joaquim (Sanjo); Cooperativa Regional Serrana (Cooperserra); Cooperativa Agrícola Frutas de Ouro; Mussato Consultoria Rural Ltda; Schio Agropecuária Ltda e revendas de insumos agrícolas das duas regiões avaliadas.

Os tópicos abordados nas entrevistas foram: a) sistema de cultivo e manejo adotado na cultura; b) contratação de serviços de polinização; c) número de colmeias de *Apis mellifera*

empregadas por hectare durante a polinização; d) valor do aluguel por colmeia; e) percentual de mortalidade de colônias verificadas no período de polinização das safras 2013/14 e 2014/15; f) agrotóxicos aplicados durante a floração; g) presença de abelhas nativas na floração e h) informações sobre as principais dificuldades encontradas pelos agricultores e técnicos relacionados aos serviços de polinização. O valor cobrado pelo aluguel das colmeias durante as duas safras foi obtido através da média do valor referido em cada estabelecimento entrevistado em ambas as regiões. Para a conversão dos valores, foi utilizada a cotação do dólar comercial no dia 02/07/2016. Os dados e informações obtidas foram tabulados e agrupados em tabelas, bem como transformados em valores percentuais ou médios para a apresentação e discussão dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema de cultivo adotado em São Joaquim e Vacaria converge para a Produção Integrada de Maçã (PIM), perfazendo 68,6% e 70% do total de agricultores entrevistados, respectivamente (Tabela 1). Esse sistema estabelece normas (restrições, obrigações e proibições) para o manejo da cultura e aplicações de agrotóxicos. Além disso, o sistema prevê a disponibilização de informações sobre a origem e procedência dos insumos utilizados (Rastreabilidade). As técnicas de manejo utilizadas na PIM preconizam assegurar a manutenção dos mecanismos de regulação natural da cultura e das pragas, garantindo o uso adequado de agroquímicos nas frutas, evitando, com isso, ações prejudiciais ao homem e ao meio ambiente (Sanhueza e Oliveira, 2006).

Nas duas regiões estudadas, o cultivo convencional ainda é utilizado por cerca de 30% dos entrevistados (Tabela 1), onde são adotadas práticas culturais com tratamentos fitossanitários a calendário fixo, sem levar em consideração os índices do monitoramento de pragas e doenças.

A produção orgânica de maçãs é incipiente nas duas regiões, com reduzida representação econômica (Tabela 1). Este fato se deve principalmente à pressão exercida por pragas como a mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), a mariposa-oriental *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) e a sarna da macieira *Venturia inaequalis* (Blanchet et al., 2012). Sem um controle adequado e eficiente, estes problemas fitossanitários podem comprometer de forma severa a produção de maçãs nestas regiões.

Os serviços de polinização através do manejo de colmeias de *A. mellifera* nos pomares de macieira são utilizados por 90% dos entrevistados na região de São Joaquim e por 100% dos entrevistados em Vacaria (Tabela 2). Os agricultores e técnicos de São Joaquim que afirmaram não utilizar a polinização dirigida com abelhas nos pomares (10%) relatam que há uma intensa visita de *A. mellifera* às flores de macieiras provenientes de colônias existentes na mata nativa ou oriundas de pomares circunvizinhos, bem como de várias espécies nativas de abelhas. Esta região destaca-se pela quantidade abundante de matas nativas preservadas e pelos pomares com áreas menores. Este fato contribui para que as flores de macieiras sejam polinizadas frequentemente por espécies nativas de abelhas. Por essa razão, alguns maleicultores não recorrem aos serviços de polinização gerenciados nos pomares.

O aluguel de colmeias é uma prática adotada pela maioria dos entrevistados, tanto em São Joaquim como em Vacaria, perfazendo 51,6% e 81,3% dos produtores que utilizam polinização dirigida, respectivamente (Tabela 2). Destaca-se também um percentual representativo de 49% de maleicultores com apiários próprios na região de São Joaquim. Possivelmente esta realidade deve-se ao menor tamanho das áreas dos pomares nesta região, os quais requerem menor número total de colmeias. Segundo os entrevistados, a manutenção de pequenos apiários torna-se economicamente mais viável do que o pagamento de serviços de terceiros com o aluguel de colmeias.

O valor médio do aluguel das colmeias durante as duas safras foi de R\$ 57,30/unidade (US\$ 17.74) em São Joaquim e R\$ 56,60/unidade (US\$ 17.52) em Vacaria (Tabela 2). Freitas; Imperatriz-Fonseca (2005) estimaram que em Santa Catarina, eram alugadas de 45 a 50 mil colmeias por florada a um custo em torno de R\$ 40,00/unidade para atender a cadeia produtiva da maçã no Estado. Segundo os autores, essa parceria com os produtores de maçã possibilitou um retorno aos apicultores de aproximadamente dois milhões de reais/ano. No Rio Grande do Sul, somente na região de Vacaria, os pomares de macieiras recebem aproximadamente 15,5 mil colmeias/ano, perfazendo uma renda anual, para os apicultores, de aproximadamente R\$ 700 mil com essa atividade (Apacame, 2014).

A densidade média de colmeias nas duas regiões é semelhante, sendo utilizadas aproximadamente três colmeias por hectare durante o período de floração (Tabela 2). Segundo Salomé (2014), a polinização dirigida com o uso de colmeias de *A. mellifera* segue o modelo desenvolvido na década de 1970, por iniciativa do Instituto de Apicultura de Santa Catarina. Para a execução da polinização dirigida, naquela época, era recomendado um número entre 0,5 e 3 colmeias/ha⁻¹, sendo variável de acordo com a idade dos pomares (Wiese, 1974). Em

outras partes do mundo, o número recomendado de colônias por hectare para garantir a polinização das flores de macieiras pode variar entre 2 a 7 (Abrol, 2012; Viana et al., 2014).

No que diz respeito ao manejo de polinizadores, nota-se a necessidade de introdução de colmeias sadias com grande número de abelhas campeiras nos períodos de floração. Este procedimento aperfeiçoa os serviços de polinização na cultura da macieira, garante maior número de flores fertilizadas e frutos com melhor qualidade e simetria. A avaliação prévia destas colônias é um fator preponderante para o sucesso do serviço de polinização na cultura da macieira.

Segundo Palacios (2011) as colmeias levadas aos pomares devem possuir 10 quadros com abelhas adultas em ambas as faces, pelo menos um quadro de crias abertas, 2,5 quadros de cria fechada e dois quadros de mel. Delaplane et al. (2013) sugerem que colmeias para a polinização deverão ser preparadas para entrarem nos pomares de macieiras com seis a oito quadros cobertos com abelhas, em que pelo menos cinco destes, sejam ocupados com crias em diferentes idades. Em hipótese, poucos apicultores e agricultores proprietários de colmeias realizam este pré-preparo para os períodos de polinização da macieira no Brasil. Isso pode ocorrer, por vezes, pela falta de informações relacionada aos procedimentos a serem tomados.

Os trabalhos relacionados à polinização dirigida em macieiras no Brasil são escassos tendo início com as cultivares Golden Delicious, Starkinson Spur e Golden Spur (Wiese, 1974), que atualmente não são mais produzidas. Naquela época, os plantios eram conduzidos no sistema de Taça, com densidade entre 550 a 800 plantas ha^{-1} (Wiese, 1974). Atualmente, ao utilizar material genético livre de vírus, porta-enxertos ananizantes e sistema de condução em líder central, é possível atingir um estande de 1.500 a 3.500 plantas ha^{-1} (Petri et al., 2011). Esse fator aumenta consideravelmente o número de flores a serem polinizadas por área (Salomé, 2014). Levando-se em conta o aumento da densidade de plantas e flores nos pomares e a manutenção das práticas de polinização adotadas há décadas, considera-se que o atual sistema de polinização utilizado em pomares de macieiras é deficitário, necessitando aumento no número de colmeias por área e aprimoramento no manejo de polinizadores gerenciados, melhorando dessa forma, a eficiência de polinização nos pomares.

Salomé (2014) recomenda para a cultura da macieira, um aumento de no mínimo 100% no número de colmeias para cada hectare (passando de três para seis colmeias), além da introdução escalonada de 50% das colmeias com o índice de 15% a 20% de flores. Se as colmeias forem alocadas antes desse índice, há forte tendência na busca de fontes alternativas de alimentos fora do pomar (Abrol, 2012). O restante das colmeias deve ser introduzido na

plena floração da macieira. Essas recomendações tem como base, a redução nas visitas às flores de maçã após o completo reconhecimento e aumento gradual da área de forrageamento pelas abelhas, culminando com a busca de outras fontes de pólen e néctar em detrimento às flores da macieira. Segundo Salomé (2014) a frutificação efetiva em cultivares como Fuji Suprema, Galaxy e Imperial Gala pode ser duplicada com um maior número de abelhas visitando as flores. Estas informações são economicamente relevantes, visto que 90% da produção nacional de maçãs é compreendida pelas cultivaras Gala, Fuji e seus clones (Petri et al., 2011).

Apesar da cultura da macieira apresentar déficit de polinização em algumas situações (Viana et al., 2014), os índices de satisfação dos entrevistados quanto aos serviços de polinização foram elevados tanto em Vacaria, 95%, quanto em São Joaquim, 87,9% (Tabela 2). Estes resultados podem estar relacionados com a produção obtida nos pomares, já que muitos maleicultores atingem produtividades em torno de 70 toneladas por hectare, o qual é um valor significativo, quando comparado à produtividade média nacional, em torno de 35 toneladas (IBGE, 2015). Além disso, para garantir este rendimento, muitos maleicultores recorrem à aplicação de hormônios como o thidiazuron que aumenta a frutificação efetiva (Petri et al., 2001), garantindo dessa forma, elevadas produtividades. Outra possibilidade do alto índice de satisfação está relacionada à polinização realizada por abelhas nativas (Blüthgen e Klein 2011) as quais visitam as flores da macieira, contribuindo para a redução do déficit de polinização.

No que diz respeito à mortalidade de colmeias de *A. mellifera*, aproximadamente 50% dos entrevistados nas regiões de São Joaquim e Vacaria observaram mortalidade de colônias durante o período de polinização nas duas safras avaliadas (2013/14 e 2014/15). Mesmo com o elevado número de relatos de mortalidade e, alguns entrevistados relataram perdas consideráveis (até 50% das colmeias), a média percentual de perdas, por propriedade durante os períodos de floração não ultrapassou 15% nas duas regiões avaliadas (Tabela 3). Entretanto, no Brasil, não existem estudos em nível de apiários, referentes ao comportamento e mortalidade das colônias após as colmeias serem retirada dos pomares de macieiras. Estes estudos são de grande valia para elucidar possíveis efeitos subletais causados por agrotóxicos durante a exposição das abelhas no período de polinização da cultura.

Os relatos de desaparecimento de enxames e mortalidade de colônias vêm sendo foco de investigações e pesquisas em vários países (Van Engelsdorp e Meixner 2010). Entre as razões apontadas para o desaparecimento das abelhas, destaca-se o “Colapso do Desaparecimento

das Abelhas” (Colony Collapse Disorder - CCD). Esse fenômeno é identificado pela presença de um conjunto de características, que incluem: ausência de abelhas mortas dentro ou próximo à colmeia, presença abundante de crias, alimento (mel e pólen) e reduzido número de abelhas adultas no ninho (Oldroyd, 2007).

Durante o levantamento nas regiões produtoras de maçã, nenhum dos entrevistados observou sintomas de perdas similares ao CCD em suas áreas. Segundo os maleicultores e responsáveis técnicos, a morte de colônias durante o período de floração teve como principal fator, a introdução de colônias pouco vigorosas com reduzido número de abelhas. Além disso, não existe um protocolo ou recomendação de manejo de pré-transporte e transporte de colmeias de *A. mellifera* utilizadas nos serviços de polinização para os pomares de macieiras no Brasil.

A parceria entre maleicultores e apicultores no Brasil, há muito tempo tem apresentado sucesso, entretanto, esta relação pode sofrer sensíveis mudanças num curto espaço de tempo. Hoje são frequentes os relatos de maleicultores que questionam a qualidade das colmeias disponíveis para a polinização (colmeias que chegam aos pomares com pequena área de cria e reduzido número de abelhas campeiras) existindo também, reclamações por parte dos apicultores que observam o declínio dos enxames que retornam dos pomares após a floração da macieira (Arioli et al., 2015).

A pulverização de fungicidas e/ou inseticidas no período de floração é utilizada nas duas regiões. Em Vacaria 100% dos entrevistados utilizaram estes produtos no período de floração nas duas safras avaliadas. Em São Joaquim, apenas 2,8% dos entrevistados, (produtores orgânicos de maçãs) afirmaram não utilizar insumos químicos no período de floração (Tabela 1). Dentre os principais agrotóxicos citados destacam-se os inseticidas: Rimon[®] (Novaluron), Altacor[®] (Clorantprilprole) e Dipel[®] (*Bacillus thuringiensis*) e os fungicidas: Dithane[®] (Mancozebe), Frownicide[®] (Fluazinam), Captan[®] (Captan), Delan[®] (Ditianona) e Mythos[®] (Pirimetnil). O objetivo destas aplicações é controlar/prevenir doenças como a sarna da macieira *Venturia inaequalis* (Blanchet et al., 2012) e para o controle de lagartas (Nunes et al., 2013). Nesse sentido, torna-se fundamental a condução de estudos específicos sobre o efeito desses produtos, principalmente efeitos subletais, os quais não são facilmente observados. No caso do Novaluron, em campo, não se observa efeitos de desorientação e/ou redução no número de visitas de abelhas adultas de *A. mellifera* nas flores de macieira quando o inseticida é aplicado (Arioli et al., 2015). No entanto, estes autores observaram que ao longo do tempo, o peso das colmeias foi reduzido em até 50%

demonstrando efeitos subletais sobre as colônias. Os fungicidas, embora vistos como mais seguros para insetos (por terem ação específica sobre fungos), também podem interromper o comportamento de forrageamento das abelhas pela ação repelente. Além disso, quando levados para a colmeia junto ao néctar e pólen podem afetar o desenvolvimento das larvas e também prejudicar o sistema imunológico das abelhas, aumentando as infecções por doenças como a causada por *Nosema ceranae* (Pettis et al., 2013).

A densidade e a atratividade das flores de culturas agrícolas em pleno florescimento, contaminadas pela aplicação de determinados agrotóxicos podem causar a morte de polinizadores, afetar o comportamento das abelhas que estão forrageando, e reduzir dessa forma, o vigor das colônias (Jivan, 2013). Esse fato tem levado inclusive os Estados Unidos a propor a criação de “zonas livres de agrotóxicos” proibindo aplicações durante o período de florescimento das culturas agrícolas (Pollinator Health Task Force, 2015).

As abelhas nativas, incluindo espécies solitárias e sociais, são os visitantes florais mais frequentes em muitas plantas e os mais importantes polinizadores de muitas angiospermas (Laroca e Almeida, 1985). Segundo os entrevistados, este grupo é frequentemente observado no período de floração da macieira. Além disso, 95% e 96,4% dos entrevistados consideram as abelhas nativas como importantes agentes polinizadores desta cultura nas regiões de Vacaria e São Joaquim, respectivamente (Tabela 4).

Devido às diferenças nas espécies e características funcionais, a maior riqueza de polinizadores capazes de promover a polinização cruzada pode aumentar a sinergia e complementariedade do forrageamento, melhorando a quantidade e qualidade da polinização (Blüthgen e Klein, 2011). Portanto, o aumento da diversidade de polinizadores efetivos pode aumentar o número de sementes, frutos e a qualidade das maçãs, como formato e tamanho do fruto (Garibaldi et al., 2014).

Campos nativos com vegetação rasteira e a presença de monoculturas, como soja, milho e trigo, no entorno dos pomares de macieiras na região de Vacaria, pode ser considerada uma hipótese pela menor presença de abelhas nativas relatada nos pomares. Ambientes com recursos escassos, principalmente àqueles ligados a alimentação e aos locais para construção de ninhos pode comprometer a abundância, a diversidade e a sobrevivência dos polinizadores, sendo dessa forma, considerado um dos fatores mais importantes no desaparecimento desses organismos (Brow e Paxton, 2009).

Algumas iniciativas amigáveis e recomendações de manejo podem amenizar o impacto sobre polinizadores e aumentar a riqueza e abundância destes insetos na maleicultura e em

diversas culturas agrícolas. Dentre estas, destacam-se: a restauração e conservação da mata nativa circundante às áreas agrícolas, plantação de espécies vegetais com flores silvestres próximas aos cultivos, as quais possam fornecer alimentação adequada e locais para nidificação (Garibaldi et al., 2014); programas regionais que ofereçam sementes e mudas de floríferas nativas aos agricultores (Isaacs et al., 2009); redução do uso e emprego de inseticidas sintéticos (Tuell e Isaacs, 2010); e o manejo de aplicação em horários menos propensos à visitação de polinizadores (Arioli et al., 2015). Estas iniciativas também são válidas para as abelhas gerenciadas. Principalmente em casos onde os maleicultores são os proprietários das colmeias e, após a floração, acomodam suas colmeias na mata circundante ou no entorno dos pomares de macieiras, ao longo do ano.

Os resultados dessa pesquisa evidenciam a necessidade do aumento no número de colmeias durante o período de floração, reduzindo o déficit de polinização, o que se reflete em maior quantidade e qualidade de frutos. Além disso, há necessidade de um estreitamento nas relações entre maleicultores e apicultores que trabalham na prestação dos serviços de polinização, ressaltando a imprescindibilidade de estabelecer critérios de manejo da cultura, dos polinizadores comerciais e silvestres. Dentre os critérios, se destacam a necessidade de profissionalização de apicultores no manejo de preparo das colmeias para a polinização da macieira. Por outro lado, é necessário o desenvolvimento de ações para a redução e manejo adequado de aplicação de insumos químicos no período de floração, bem como a conservação da paisagem circundante às áreas agrícolas por parte dos maleicultores.

CONCLUSÕES

A PIM é o principal sistema de cultivo utilizado nos principais polos de produção de maçãs no Brasil. Os serviços de polinização, através do aluguel de colmeias de *A. mellifera*, são adotados pela maioria dos maleicultores, empregando em média três colmeias por hectare no período de floração da macieira. O custo médio por unidade referente ao aluguel de colmeias é de R\$ 56,60 (US\$ 17.52) em Vacaria e R\$ 57,30 (US\$ 17.74) em São Joaquim. O índice médio relatado de mortalidade de colmeias gerenciadas durante a floração da macieira está abaixo de 15%. A ocorrência de abelhas nativas é constatada frequentemente na floração da macieira pelos maleicultores. Há necessidade de um manejo conservacionista e de estudos sobre a real contribuição deste grupo na polinização da cultura.

AGRADECIMENTOS

Os autores desejam expressar agradecimentos aos fruticultores, engenheiros agrônomos e responsáveis técnicos que colaboraram com a pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- Abrol, D.P. 2012. *Pollination Biology*. Springer Science Business Media. Netherlands. doi:10.1007/s10886-015-0624-4
- Apacame. 2014. Produtores de maçã locam colmeias para assegurar polinização eficaz e obter mais qualidade e produtividade. *Revista Mensagem Doce*, São Paulo, Brasil. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/128/apiculturamigratoria.htm> (Acessado Jan. 2016)
- Arioli, C.J., P.L. Pastori., M. Botton., M.S. Garcia., R. Borges, and A. Mafra-Neto. 2014. Assessment of SPLAT formulations to control *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) in a Brazilian apple orchard. *Chilean journal of agricultural research* 74 (2):184-190. doi:10.4067/S0718-58392014000200009
- Arioli, C.J., J.M. da, Rosa, and M. Botton. 2015. Mortalidade de *Apis mellifera* e manejo da polinização em macieira. Abstract p. 69-80 In: Encontro Nacional de Fruticultura de Clima Temperado. 28-30 July. EPAGRI, Fraiburgo, Brasil.
- Blanchet, F., R.M. Valdebenito-Sanhueza, and P. Spolti. 2012. Partial resistance of old apple cultivars to *Venturia inaequalis*. *Tropical Plant Pathology* 37(4):291-297. doi: 10.1590/s1982-56762012000400010
- Blüthgen, N., and A-M. Klein. 2011. Functional complementarity and specialization: the role of biodiversity in plant-pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology* 12(4):282-291. doi: 10.1038/srep03
- Breeze, T.D., A.P. Bailey., K.G. Balcombe, and S.G. Potts. 2011. Pollination services in the UK: How important are honeybees?. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 142(3):137-143. doi: 10.1016/j.agee.2011.03.020
- Brown, M.J., and R.J. Paxton. 2009. The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie* 40(3):410-416.

- Delaplane, K.S., P.A. Thomas, and W.J. Mclaurin. 2013. Bee pollination of Georgia crop plants. University of Georgia, Athens, EUA. Disponível em: <http://athenaeum.libs.uga.edu/bitstream/handle/10724/12165/B1106.pdf?sequence=1> (Accessado Fev. 2016).
- Freitas, B.M., and V.L. Imperatriz-Fonseca. 2005. A Importância Econômica da Polinização. *Revista Mensagem Doce* 80:16-20.
- Garibaldi, L.A., L.G. Carvalheiro., S.D. Leonhardt., M.A. Aizen., B.R. Blaauw., R. Isaacs, and L. Morandin. 2014. From research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment* 12(8):439-447. doi:10.1890/130330
- IBGE. 2015. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=1&z=t&o=26&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1> (Accessado mai. 2016).
- Isaacs, R., J. Tuell., A. Fiedler., M. Gardiner, and D. Landis. 2009. Maximizing arthropod mediated ecosystem services in agricultural landscapes: the role of native plants. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7(4):196-203. doi: 10.1890/080035
- Jivan, A. 2013. The Impact of Pesticides on Honey Bees and Hence on Humans. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* 46(2):272-277.
- Kvitschal, M.V., F. Denardi., F.S. Schuh, and D.C. Manenti. 2013. Identificação de polinizadoras para a cultivar de macieira Daiane. *Revista Brasileira de Fruticultura* 35 (1):9-14. doi:10.1590/S0100-29452013000100002
- Laroca, S., and M.C. Almeida. 1985. Adaptação dos palpos labiais de *Niltonia virgilia* (Hymenoptera, Colletidae) para coleta de néctar em *Jacaranda puberula*, com descrição do macho. *Revista Brasileira de Entomologia* 29(2):289-297.
- Lebuhn, G., S. Droege., E.F. Connor., B. Gemmill-Herren., S.G. Potts., R.L. Minckley, and J. Cane. 2013. Detecting insect pollinator declines on regional and global scales. *Conservation Biology* 27(1):113-120. doi: 10.1111/j.1523-1739.2012.01962.x
- Losey, J.E., and M. Vaughan. 2006. The economic value of ecological services provided by insects. *BioScience* 56(4):311-323.
- Nunes, J.C.; R.S.S. Dos Santos, and M.I.C. Boff. 2013. Identificação e comportamento ecológico de mariposas em pomar de macieira. *Revista de la Facultad de Agronomía* 112 (1):51-61.
- Oldroyd, B.P. 2007. What's killing American honey bees?. *PLoS biology* 5(6):e168. doi: 10.1371/journal.pbio.0050168

- Palacios, P.E. 2011. Servicios de polinización com abejas em frutales: parámetros técnicos y de calidad. *Revista Actualidad Apícola* 3:11-14.
- Pettis, J.S., E.M. Lichtenberg., M. Andree., J. Stitzinger, and R. Rose. 2013. Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. *PLoS One* 8(7):e70182. doi:10.1371/journal.pone.0070182
- Petri, J.L. G., Berenhauser, M., Couto, and P. Francescato. 2011. Avanços na cultura da macieira no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33:48-56. doi:10.1590/S0100-29452011000500007
- Potts, S.G., J.C. Biesmeijer., C. Kremen., P. Neumann., O. Schweiger, and W.E. Kunin. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 25(6):345-353. doi: 10.1016/j.tree.2010.01.007
- Sanhueza, R.M.V., and P.R.D. Oliveira. 2006. Resgate de macieiras antigas no estado do Rio Grande do Sul: uma opção para a manutenção da diversidade genética. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(1):158-159. Doi: 10.1590/S0100-29452006000100044
- Salomé, J.A. 2014. Polinização dirigida em pomares de macieiras (*Malus doméstica* Borkh) com o uso de colmeias de *Apis mellifera* L. 137 p. Thesis (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- Pollinator Health Task Force. 2015. National strategy to promote the health of honey bees and other pollinators. Washington, USA, Disponível em: <https://www.whitehouse.gov/sites/default/files/microsites/ostp/Pollinator%20Health%20Strategy%202015.pdf> (accessado Jan. 2016).
- Tuell, J.K., and R. Isaacs, 2010. Weather during bloom affects pollination and yield of highbush blueberry. *Journal of economic entomology* 103(3):557-562. doi: 10.1603/EC09387
- Van Engelsdorp, D., and M.D. Meixner. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103:80–95.
- Viana, B.F., J.G. da Encarnação Coutinho., L.A. Garibaldi., G.L.B. Gastagnino., K.P. Gramacho, and F.O. da Silva, 2014. Stingless bees further improve apple pollination and production. *Journal of Pollination Ecology* 14(25):261-269.
- Wiese, H. 1974. Normas para atividades de polinização com abelhas em fruticultura. Edeme, Fraiburgo, Brasil.

Tabela 1. Sistemas de cultivo empregados em pomares de macieiras nas regiões de São Joaquim, SC e Vacaria, RS.

Sistema de cultivo	Região	
	São Joaquim	Vacaria
PIM ¹ (%)	68,6	70
Convencional (%)	28,6	30
Orgânico (%)	2,8	0,0

¹Produção integrada de maçã.

Tabela 2. Perfil dos maleicultores de São Joaquim e Vacaria quanto ao uso de colmeias de *Apis mellifera* para os serviços de polinização. Valor aluguel das colmeias e índice de satisfação quanto ao uso de polinização dirigida.

Diagnóstico (Censo)	São Joaquim	Vacaria
Uso de serviços de polinização (%)	90,0	100,0
Apiário próprio (%)	49,1	20,0
Aluguel de colmeias (%)	51,6	81,3
Valor médio do aluguel ¹ (R\$)	57,30 ($\pm 2,47$) ²	56,60 ($\pm 1,97$) ²
Nº de colmeias por hectare (un.)	3,3 ($\pm 0,29$) ²	2,9 ($\pm 0,23$) ²
Índice de satisfação (%)	90 ³	95 ³

¹Valor médio obtido referente aos dois anos de entrevistas. ²EP: Erro padrão. ³Índice de satisfação dos entrevistados que usaram os serviços de polinização dirigida.

Tabela 3. Percentual de maleicultores e técnicos entrevistados que relataram perdas de colmeias e percentual médio de perdas nas regiões de São Joaquim e Vacaria durante os períodos de floração das safras 2013/14 e 2014/15.

Região	Relatos de perdas ¹ (%)		Média de colmeias perdidas ² (%)	
	Safra	Safra	Safra	Safra
	2013/14	2014/15	2013/14	2014/15
São Joaquim	49,1	45,6	13	8,5
Vacaria	55,0	50,0	14,8	8,8

¹Percentual de entrevistados que relataram perdas de colmeias. ²Percentual médio de colmeias perdidas por estabelecimento agrícola na floração.

Tabela 4. Conhecimento de maleicultores e técnicos entrevistados em São Joaquim, SC e Vacaria, RS sobre abelhas nativas e a sua importância durante o período de florescimento da cultura da macieira.

Região	Presença de abelhas nativas	Importância de abelhas nativas na
	nos pomares ¹	polinização ²
São Joaquim	84,6	96,4
Vacaria	75	95

¹Porcentagem de entrevistados que observam abelhas nativas em flores de macieira.

²Porcentagem de entrevistados que consideram as abelhas nativas como importantes polinizadores na cultura da macieira.

Anexo 1**Questionário: Diagnóstico dos serviços de polinização em pomares de macieiras**

Nome (não obrigatório): _____

Município: _____

1. Sistema de cultivo e manejo adotado na cultura:

 Convencional Orgânico PIM2. Você utiliza os serviços de polinização por *Apis mellifera* no período de florescimento da macieira? Sim Não

3. Origem das colmeias para a polinização?

 Apiário próprio Aluguel das caixas Ambos

4. Numero de caixas/ha: _____

5. Valor do aluguel/caixa: _____

6. Está satisfeito com o resultado? SIM NÃO

7. Observou perda/morte de colônias durante o período de floração?

 NÃO SIM Número de colônias mortas () % _____8. Observa espécies nativas de abelhas no pomar? SIM NÃO

9. Agrotóxicos e fitohormônios aplicados durante o período de floração:

10. Presença de abelhas nativas na floração? SIM NÃO11. Considera importante a presença de abelhas nativas na floração? SIM NÃO

ARTIGO 2 – Pesquisa Agropecuária Brasileira

Versão em português

**TOXICIDADE DE INSETICIDAS E ISCAS TÓXICAS UTILIZADAS PARA O
CONTROLE DE MOSCA DAS FRUTAS SOBRE ABELHAS MELÍFERAS**

JOATAN MACHADO DA ROSA; CRISTIANO JOÃO ARIOLI; SIMONE SILMARA
WERNER; ANDERSON DIONEI GRÜTZMACHER; MARCOS BOTTON.

**Toxicidade de inseticidas e iscas tóxicas utilizadas para o controle de mosca-das-frutas
sobre abelhas melíferas**

Joatan Machado da Rosa⁽¹⁾, Cristiano João Arioli⁽²⁾, Simone Silmara Werner⁽²⁾, Anderson
Dionei Grutzmacher⁽¹⁾ e Marcos Botton⁽³⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” (FAEM), Departamento de Fitossanidade, Caixa Postal 354, CEP 96900-010, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: joatanmachado@gmail.com, adgrutzm@ufpel.edu.br.

⁽²⁾Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão rural – Epagri, rua João Araújo Lima, 102, Jardim Caiçara, São Joaquim, SC, Brasil, CEP 88600-000, cristianoarioli@epagri.sc.gov.br, simonewerner@epagri.sc.gov.br.

⁽³⁾ Embrapa Uva e vinho, Laboratório de Entomologia, rua Livramento, 515 Juventude, Bento Gonçalves, RS, Brasil. CEP 95700-000, marcos.botton@embrapa.br.

Resumo - O emprego de iscas tóxicas é um dos principais métodos para a supressão das populações da mosca-das-frutas Sul-americana, *Anastrepha fraterculus*. No entanto, existe uma preocupação quanto ao efeito deletério desta tecnologia sobre *Apis mellifera*, principal polinizador utilizado na cultura da macieira no Brasil. O objetivo desse trabalho foi verificar a toxicidade de iscas tóxicas de pronto uso e de inseticidas empregados em formulações sobre *A. mellifera* (abelha africanizada) em laboratório. Duas formas de exposição foram avaliadas: a) aplicação tópica e b) ingestão de dieta contaminada. Os inseticidas avaliados foram: acetamiprido, espinosade, espinetoram, fosmete, malationa, metidationa, e as iscas tóxicas de pronto uso Gelsura[®] (alfacipermetrina) e Success 0,02 CB[®] (espinosade). Os resultados indicaram que, independente da forma como as abelhas foram expostas, os inseticidas

alfacipermetrina (Gelsura[®]) e malationa foram altamente nocivos para *A. mellifera*. Da mesma forma, o inseticida metidationa via contato foi altamente nocivo e moderadamente nocivo via ingestão. Os inseticidas spinetoram e espinosade foram classificados como levemente nocivos em aplicação tópica e moderadamente nocivos quando oferecidos em dieta contaminada. Os inseticidas acetamiprido, fosmete e a isca tóxica Success 0,02 CB[®] foram levemente nocivos à *A. mellifera* nas duas formas de exposição. As diferenças de toxicidade apresentadas podem ser utilizadas para definir ingredientes ativos mais seguros à *A. mellifera*. As formulações de iscas tóxicas não seletivas em laboratório devem ser avaliadas a campo para definir o real efeito sobre a população de *A. mellifera* em condições reais de aplicação.

Palavras-chave: *Apis mellifera*; *Anastrepha fraterculus*; isca tóxica; toxicidade.

Toxicity of insecticides and toxic baits used in apple growing on honeybees

Abstract - Toxic baits are one of the main methods used for suppressing *Anastrepha fraterculus* populations. However, there is a concern regarding to the deleterious effect of this technology on *Apis mellifera*, main pollinator used in apple orchards in Brazil. The aim of this work was to evaluate the toxicity of ready-to-use toxic baits and insecticides employed on bait mixtures on *A. mellifera* (Africanized bee) in laboratory. Two exposition ways were evaluated: topic and ingestion by the contaminated diet. The insecticide evaluated were: acetamiprid, spinosad, spinetoran, phosmet, malathion, methidathion, and the pre-formulated toxic baits Gelsura[®] (alpha-cypermethrin) and Success 0,02 CB[®] (spinosad). Results indicate that the insecticides malathion and alfa-cypermethrin were highly harmful to *A. mellifera* in both ways of exposition. Similarly, the insecticide methidathion was highly harmful on the contact tests and moderately harmful on ingestion tests. The insecticides spinetoram and spinosad were classified as slightly harmful on topic tests and moderately harmful on

ingestion tests. The insecticides phosmet, acetamiprid, and the toxic bait Success 0.02 CB were slightly harmful to *Apis mellifera* on both exposition ways. Toxicity differences showed in this work may be used to define active ingredients less toxic to *A. mellifera*. Nonselective toxic baits formulations in laboratory should be tested in field experiments to evaluate the effect on the population of *A. mellifera* in real conditions of application.

Key words: *Apis mellifera*; *Anastrepha fraterculus*; toxic bait; toxicity.

Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com um volume anual de 43 milhões de toneladas (ABF, 2016). Entretanto, a incidência de insetos praga têm sido um dos principais fatores limitantes a produção, destacando-se a mosca-das-frutas Sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wied) (Diptera: Tephritidae) (Nava & Botton, 2010; Nunes et al., 2013, Borges et al., 2015). Dentre os métodos de controle preconizados pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP) para o controle de mosca-das-frutas, o emprego de iscas tóxicas tem sido uma das estratégias mais utilizadas para o controle desta praga no Brasil e em outras regiões de produção de frutas (Raga 2006; Ruiz et al., 2008; Piñero et al., 2009; Härter et al., 2010; Borges et al., 2015; Botton et al., 2016). Além disso, o uso de iscas tóxicas tem sido uma ferramenta alternativa para a redução de pulverizações com inseticidas em área total nos pomares (Härter et al., 2015).

Diversos atrativos estão disponíveis no Brasil para elaboração de iscas tóxicas, destacando-se as substâncias açucaradas como o melaço de cana-de-açúcar (Raga, 2006), proteínas hidrolisadas como o Biofruit[®] (Härter et al., 2010) e Anamed[®] (Borges et al., 2015), além de formulações de pronto uso como o Success 0,02 CB (Härter et al., 2015) e a isca tóxica Gelsura[®] (Ruiz, 2013). Success 0,02 CB[®] (GF-120) é composto de uma mistura de proteína hidrolisada de milho; açúcares invertidos; óleo; goma; sorbato de potássio; acetato de

amônia e espinosade como agente letal (Moreno & Mangan, 2002). Esta isca é recomendada para utilização na produção biológica pelo Departamento de agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2010). A isca tóxica de pronto uso Gelsura[®] está sendo introduzida no mercado brasileiro, sendo composta de gel concentrado em uma matriz de polímeros superabsorventes com atraente alimentar, paraferomônio e o piretroide alfacipermetrina como agente letal (Ruiz, 2013).

Experimentos conduzidos em laboratório e casa de vegetação têm demonstrado eficácia para o controle de adultos da mosca-das-frutas Sul-americana com o emprego desses atrativos com destaque para o Anamed[®] e o Gelsura[®], os quais apresentam maior resistência à lavagem pelas chuvas em comparação às demais formulações (Botton et al., 2016).

Os adultos de *A. fraterculus* são atraídos por diferentes fontes alimentícias, de acordo com a sua necessidade fisiológica. Aminoácidos e derivados proteicos são essenciais para a fecundação e nutrição de ovos em maturação, bem como a ingestão de açúcares é necessária para fins de manutenção corporal (Heat et al., 1993; Zucoloto, 2000).

A maioria dos atrativos usados em iscas tóxicas é misturada com inseticidas pelos agricultores e em seguida, aplicados em baixo volume. As aplicações são realizadas principalmente na bordadura dos pomares, muitas vezes próximo às matas, formando uma barreira atrativa e letal, visando reduzir a incidência à entrada de *A. fraterculus* nos pomares. Mesmo em concentrações baixas, os agrotóxicos podem afetar a estrutura e a função das comunidades naturais, provocando impactos em múltiplos níveis (Grisolia, 2005). Assim, populações de polinizadores e inimigos naturais podem ser afetadas por esta tecnologia (Sánchez et al., 2012; Biondi et al., 2012).

Dentre os polinizadores propensos à intoxicação pelo uso de iscas tóxicas destaca-se a espécie *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), que possui significativa contribuição na polinização da cultura da macieira no Brasil (Nunes-Silva et al., 2016).

Segundo Losey & Vaughan (2006), a dependência da cultura da macieira por abelhas polinizadoras, principalmente *A. mellifera*, pode chegar a 100% e sua presença está intimamente ligada ao aumento da frutificação e produtividade dos pomares brasileiros (Salomé, 2014). Além disso, muitos fruticultores acomodam suas colônias no entorno ou em matas próximas aos pomares após o período de floração, o que pode aumentar a propensão a uma possível contaminação das colônias.

Estudos realizados em diferentes culturas demonstram que o uso de iscas tóxicas tem um efeito significativo na supressão populacional de mosca-das-frutas nos pomares (Raga & Sato, 2005; Härter et al., 2015; Borges et al., 2015). Entretanto, são escassos os estudos toxicológicos relacionando o uso de iscas tóxicas e possíveis efeitos sobre *A. mellifera*. Além disso, a maioria dos trabalhos existentes tem como foco o estudo do efeito de iscas à base de espinosade (Edwards et al., 2003; Mangan & Moreno, 2009; Biondi et al., 2012, Gómez-Escobar et al., 2014; Cabrera-Marín et al., 2016), com poucas informações sobre o efeito de fosforados e piretróides, importantes agentes letais empregados nas formulações usadas no Brasil. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade de inseticidas empregados nas formulações de iscas tóxicas preparadas na propriedade e de iscas tóxicas de pronto uso sobre o polinizador *A. mellifera*.

Material e métodos

O trabalho foi realizado no laboratório de Entomologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), localizada no município de São Joaquim, SC. A altitude média da região é de aproximadamente 1360 metros, com as seguintes coordenadas geográficas 28° 17' 38" S e 49° 55' 54" W. A região caracteriza-se por apresentar clima temperado (mesotérmico úmido com verão seco) e a temperatura média anual em torno de 13 °C (Alvares et al., 2013).

Os adultos de *A. mellifera* utilizados nos bioensaios foram provenientes de um apiário experimental da Epagri contendo 10 colmeias. As colônias são mantidas em caixas tipo Americana ou Langstroth, cada uma composta por 10 quadros. Tanto os procedimentos utilizados nos experimentos quanto o monitoramento da saúde e estado fisiológico das colônias basearam-se nos protocolos e diretrizes da OECD (Organization for Economic Cooperation and Development, 1998), desenvolvido para *A. mellifera*.

Adultos recém-emergidos foram coletados no interior da colmeia, capturadas de quadros centrais, próximo às áreas de cria, que contêm larvas e pupas. Em seguida as abelhas foram acondicionadas em frascos plásticos com capacidade de três litros e imediatamente transportadas em caixa de isopor até o laboratório visando reduzir a propensão a ferimentos, estresse e morte dos insetos.

Para avaliar a toxicidade dos inseticidas e iscas tóxicas, foram utilizadas duas formas de exposição: contato (aplicação tópica), ingestão de iscas tóxicas de pronto uso e a ingestão dos inseticidas através de dieta contaminada. Para ambos os testes, contato e ingestão, as abelhas foram anestesiadas com CO₂ por 120 segundos. Os indivíduos com danos corporais e os que não se moveram ou permaneceram moribundos, foram descartados antes do início dos experimentos. Ambos os testes, foram realizados em câmaras climatizadas tipo BOD sob condição controlada, temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, escotofase de 24 horas).

O experimento foi realizado utilizando o delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições contendo 10 abelhas adultas por repetição. Após a exposição dos insetos aos inseticidas e iscas tóxicas, esses foram colocados em caixas de acrílico (arenas com 11x11x3,5 cm) possuindo tampa com orifício circular com tela (2 mm) para ventilação. As arenas foram forradas com papel filtro para auxiliar na absorção de dejetos e higiene das

abelhas. A mortalidade foi avaliada 1, 3, 6, 12, 24, 48 e 72 horas após o início dos experimentos.

Inseticidas e iscas tóxicas. Foram avaliados os inseticidas: Malathion[®], Delegate[®], Suprathion[®], Tracer[®], Imidam[®], Mospilan[®] (Tabela 1) e as iscas tóxicas de pronto uso Gelsura[®] (BASF S.A, SP, Brasil), na dose 1:2 (Gelsura[®]: água) e Success 0,02 CB[®] (Dow AgroSciences, Santo Amaro, SP, Brazil), na dose de 1:1,5 (Success 0,02 CB[®]: água) (Tabela 1).

Aplicação tópica de inseticidas e iscas tóxicas sobre *A. mellifera*. As abelhas foram separadas em grupos de 10 insetos e, com micropipeta graduada, foi realizada a aplicação tópica de 1 µL (microlitro) da formulação na região do pronoto de cada indivíduo (Biddinger et al., 2013). As abelhas do tratamento controle receberam 1 µL de água destilada. Em seguida as abelhas receberam uma solução de sacarose 50% (v/v) *ad libitum* até o final do experimento.

Efeito de inseticidas e iscas tóxicas oferecidas em dieta contaminada sobre *A. mellifera*.

As abelhas passaram pelos mesmos procedimentos citados do teste de contato, exceto pelo tipo de exposição. Após a anestesia e separação das abelhas nas arenas, estas ficaram sem alimento por duas horas e, em seguida foram oferecidos os inseticidas em dieta contaminada, solução aquosa de sacarose 50% v/v (Tomé et al., 2015) e as iscas tóxicas de pronto uso. O tratamento controle foi composto apenas por água destilada durante o período de exposição. As iscas tóxicas de pronto uso (Success 0,02 CB[®] e Gelsura[®]) foram oferecidas da mesma forma que são preparadas e na mesma dose que são aplicadas no campo.

Para a avaliação da toxicidade via ingestão, os inseticidas foram testados em dieta contaminada com sacarose 50% (v/v). As iscas de pronto uso Success 0,02 CB[®] e Gelsura[®] também foram testadas via ingestão, entretanto, oferecidas na forma que são aplicadas no

campo. Tanto a alimentação quanto a dieta contaminada foram oferecidas por meio de tubos para microcentrífuga de 1,5 mL (Mao et al., 2011), fixado na lateral da caixa.

As abelhas ficaram expostas aos tratamentos por quatro horas. O alimentador utilizado possuía uma abertura (~1,5 mm) na parte inferior para possibilitar o acesso das abelhas aos tratamentos exclusivamente através da extensão da probóscide, caracterizando, de fato, uma contaminação por ingestão. Em seguida, solução aquosa de sacarose 50% (v/v) foi disponibilizada *ad libitum* até o final do experimento.

Classificação da toxicidade e avaliação comportamental. Para enquadrar agroquímicos quanto ao efeito adverso causado a organismos benéficos em testes de laboratório, os inseticidas e iscas tóxicas avaliados foram classificados para *A. mellifera* em função da taxa de mortalidade às 72 horas (Costa et al., 2014). Para tal, foram utilizadas as classes de toxicidade da “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants”, (IOBC) para organismos benéficos. Os produtos avaliados foram classificados em: 1) inócuo (<30%); 2) levemente nocivo (30-79%); 3) moderadamente nocivo (80-99%), e 4) nocivo (>99%) (Hassan, 1994). Durante o período de avaliação, foi realizado o acompanhamento do comportamento das abelhas. Sinais de prostração, paralisia, redução de motilidade e outros foram observados durante as avaliações. Abelhas que não responderam a estímulos mecânicos foram classificadas como mortas; no entanto, foram mantidas dentro das arenas, até ao final do experimento.

Análises dos dados. Modelos lineares generalizados do tipo binomial (ou quase binomial em caso de superdispersão) foram utilizados para os dados de proporção de abelhas mortas em todos os experimentos. Utilizou-se o gráfico normal de probabilidades com envelope simulado para seleção e verificação do ajuste (Demétrio et al., 2014). Os tratamentos foram comparados utilizando contrastes, criando-se grupos de produtos fitossanitários com efeitos semelhantes (Carvalho et al., 2009). Por meio do modelo ajustado foi calculado o tempo

necessário para matar 50% das abelhas (TL₅₀) para cada inseticida e/ou isca tóxica testada (Costa et al., 2014). Considerou-se o intervalo de confiança de 95% (IC_{95%}), para comparação entre os tempos letais (TL₅₀) dos inseticidas ou grupos avaliados. Os percentuais de mortalidade foram calculados para cada tratamento nos dois métodos de exposição e a mortalidade foi corrigida utilizando a equação de Abbott (Abbott, 1925). Todas as análises foram realizadas utilizando o ambiente R, versão 3.2.1 (2015).

Resultados e Discussão

Aplicação tópica de inseticidas e iscas tóxicas sobre *A. mellifera*. A ordem decrescente de toxicidade às 72 horas no experimento de contato para *A. mellifera* foi: alfacipermetrina (Gelsura[®]) > malationa > metidationa > fosmete > acetamiprido > espinosade > espinetoram > espinosade (Success 0,02 CB[®]) (Tabela 2). Em relação à classificação toxicológica os organofosforados malationa e metidationa foram altamente nocivos (Classe 4), quando aplicados diretamente sobre as abelhas, causando 100% de mortalidade (Tabela 2, Figura 1). Estes inseticidas apresentaram um TL₅₀ de 3,22 e 3,24 horas após a aplicação tópica, respectivamente (Tabela 3).

A isca tóxica Gelsura[®] (alfacipermetrina) apresentou alta toxicidade (classe 4), com 26% de mortalidade após uma hora e 100% às 12 horas após a aplicação tópica (Figura 1), com TL₅₀ de 1,75 horas (Tabela 3). O grupo 4 (fosmete) e o grupo 7 (acetamiprido, spinetoran e espinosade) foram levemente nocivos (Classe 2) com TL₅₀ 55,65 e 66,15 horas, respectivamente. A isca tóxica de pronto uso Success 0,02 CB[®] (espinosade) foi levemente nociva (classe 2), com TL₅₀ maior que 72 horas (Tabela 2) e 37,9% de mortalidade ao final do experimento de contato (Figura 1).

Dentre os sintomas apresentados pelos indivíduos intoxicados com malationa e metidationa, observou-se a prostração, perda dos movimentos de pernas e asas e capacidade

de locomoção comprometida nas primeiras horas após a aplicação tópica. A isca tóxica de pronto uso Gelsura[®] (alfacipermetrina) causou convulsões, tremores e paralisia corporal em 100% das abelhas, caracterizando o efeito “knockdown” (Carvalho et al., 2009; Costa et al., 2014). Três horas após a aplicação, algumas abelhas recuperaram os movimentos, entretanto, as sobreviventes apresentaram coordenação motora comprometida, além de permanecerem com o dorso do corpo voltado para baixo.

Abelhas expostas ao inseticida fosmete apresentaram redução da capacidade motora, enquanto que as abelhas contaminadas com acetamiprido apresentaram prostração e paralisia corporal ou movimentos descoordenados. Algumas abelhas moviam apenas as antenas e não respondiam ao toque. Os inseticidas spinetoram, espinosade e a isca de pronto uso Success 0,02 CB[®] causaram redução da motilidade e falta de coordenação motora a partir das seis horas após a aplicação. No decorrer das avaliações, algumas abelhas mortas mantinham-se na posição normal e a morte só era confirmada no momento do toque. Algumas abelhas sobreviventes apresentavam movimentos lentos e outras normais.

Efeito de inseticidas oferecidos em dieta contaminada sobre *A. mellifera*. Para o experimento de ingestão, não houve a formação de grupos pela análise de contrastes. O comportamento de cada inseticida e formulação utilizada foram distintos em relação ao percentual de mortalidade. A ordem decrescente de toxicidade às 72 horas no experimento de ingestão para *A. mellifera* foi: alfacipermetrina (Gelsura[®]) > malationa > metidationa > fosmete > acetamiprido > espinetoran > espinosade > espinosade (Success 0,02 CB[®]).

A isca tóxica Gelsura[®] (alfacipermetrina) foi altamente nociva à *A. mellifera* (Classe 4), apresentando o menor TL₅₀ com 0,71 horas no experimento de ingestão (Tabela 4) com 67% e 100% de mortalidade uma hora e seis horas após o início do experimento, respectivamente (Figura 2). Os inseticidas malationa e metidationa apresentaram 93% e 77,5% de mortalidade às 12 horas após o oferecimento de dieta contaminada e TL₅₀ de 1,00 e

2,32 horas, respectivamente (Figura 2), sendo classificados como nocivo e moderadamente nocivo (Tabela 2).

Os inseticidas spinetoram e espinosade foram moderadamente nocivos (Tabela 2), apresentando mortalidade de 94,4% e 87,8% às 72 horas de avaliação (Figura 2) com TL₅₀ 27,06 e 20,21 horas após o oferecimento da dieta contaminada (Tabela 4). Além disso, spinetoran e espinosade oferecidos em dieta contaminada apresentaram maiores taxas de mortalidade às 24 horas (44,9% e 61,2%) em relação à aplicação tópica (1% e 0%), respectivamente.

O inseticida fosmete mostrou-se levemente nocivo, com mortalidade de 66,6% e TL₅₀ de 18,06 horas. A isca tóxica à base de espinosade (Success 0,02 CB[®]) também se mostrou levemente nociva quando oferecido em dieta contaminada, com mortalidade de 27,4% às 24 horas, 48,9% ao final do experimento (Figura 2) e TL₅₀ 65,67 horas (Tabela 4). O inseticida acetamiprido apresentou TL₅₀ superior ao tempo de realização do experimento, enquanto que a mortalidade foi de 44,4% às 72 horas após o oferecimento da dieta contaminada, sendo classificado como levemente nocivo ao final do experimento.

Os sintomas comportamentais apresentados pelas abelhas durante a aplicação tópica foram semelhantes no experimento de ingestão para os produtos malationa, metidationa, fosmete. Durante a exposição à alfacipermetrina (Gelsura[®]), além dos sintomas observados na aplicação tópica, as abelhas apresentaram o sintoma de regurgitação excessiva. A isca tóxica de pronto uso Success 0,02 CB[®] e os inseticidas spinetoran e espinosade apresentaram sintomas semelhantes, no entanto, foram observados com três horas de antecedência em relação à aplicação tópica. A antecipação do início dos sintomas de intoxicação se refletiu no TL₅₀ e na mortalidade final para estes inseticidas. Enquanto no experimento tópico foram necessárias 66,15 horas para matar 50% das abelhas expostas à espinosade e spinetoran, no de ingestão foram necessárias 20,21 e 27,06 horas respectivamente.

O inseticida malationa mostrou-se extremamente tóxico às abelhas independente do modo de exposição em laboratório. A alta toxicidade do inseticida malationa à *A. mellifera* foi reportada por outros estudos (Gary & Mussen, 1984; Atkins, 1992; Stanley et al., 2015). Metidationa também foi altamente nocivo em aplicação tópica e moderadamente nocivo em dieta contaminada com TL_{50} inferior a 4 horas nas duas formas de exposição. Resultados similares foram encontrados por Carvalho et al., (2009) com TL_{50} de 2,62 e 4,77 horas após pulverização e oferecimento de dieta contaminada. Dessa forma, os autores consideraram que independente da forma de exposição, o inseticida metidationa foi extremamente tóxico para adultos de *A. mellifera* africanizadas. Delaplane & Mayer (2005) verificaram a toxicidade de metidationa sobre abelhas e também classificaram o inseticida como extremamente tóxico, recomendando que seu uso não seja feito antes e durante o período de florescimento. Por fim, Villa et al. (2000), concluíram que metidationa também foi altamente tóxica quando fornecida a abelhas adultas através de pólen contaminado.

O inseticida alfacipermetrina, agente letal utilizado na isca tóxica de pronto uso Gelsura[®] foi altamente tóxico às abelhas nos dois modos de exposição. Os tempos letais obtidos foram sensivelmente baixos e a mortalidade final foi de 100% logo após as primeiras horas do experimento. O sintoma de *knockdown* foi observado logo após a aplicação de forma similar ao relatado em outros estudos com o piretroide deltametrina em *A. mellifera* (Carvalho et al., 2009; Costa et al., 2014). De acordo com Ingram et al. (2015), os piretroides têm sido reportados por representar um risco reduzido às abelhas, devido às suas baixas taxas de aplicação no campo e às suas propriedades repelentes. Segundo os mesmos autores, acredita-se que esta repelência altera o comportamento de forrageamento evitando com que as abelhas entrem em contato no campo. Entretanto Karise et al. (2007) relataram que o piretroide alfacipermetrina não foi repelente para *A. mellifera*, 24 horas após a pulverização de *Brassica*

napus a campo. Durante três anos os autores observaram que as abelhas realizavam o forrageamento tanto em flores tratadas como no controle.

O contato direto com alfacipermetrina ou com seus resíduos pode causar a morte ou apresentar efeitos subletais em abelhas. Na maioria das vezes a exposição ocorre de forma direta através de resíduos na superfície das folhas ou indireta pela contaminação do néctar ou o pólen após a pulverização (Gels & Potter, 2002).

O inseticida fosmete não foi agrupado por análise de contrastes nas duas formas de exposição, apresentando menor toxicidade em relação à alfacipermetrina (Gelsura®) e aos demais organofosforados. Com base na comparação dos intervalos de confiança obtidos no teste de ingestão, não foi observada diferença significativa entre os tempos letais de fosmete, espinetoram e espinosade. Por outro lado, fosmete foi significativamente mais tóxico que acetamiprido e espinosinas avaliadas no experimento de aplicação tópica. Da mesma forma, Biddinger et al. (2013) também relataram que fosmete apresentou maior toxicidade sobre *A. mellifera* em relação ao acetamiprido em aplicação tópica após 48 horas.

Os tempos letais apresentados por acetamiprido nos testes de ingestão foram superiores ao tempo de realização dos experimentos demonstrando baixa toxicidade em laboratório. Estes resultados estão de acordo com Laurino et al. (2011) e Stanley et al. (2015). Badawy et al. (2015) sugerem que acetamiprido apresenta baixa toxicidade para adultos de *A. mellifera*, e pode ser aplicado de forma segura durante os períodos de baixa ou nenhuma atividade de forrageamento das abelhas. A mortalidade por acetamiprido de 44,4% às 72 horas foi semelhante à mortalidade de 47% observada por Costa et al. (2014) em testes com dieta contaminada com sintomas de intoxicação similares. Entretanto, estes autores classificaram acetamiprido como altamente tóxico quando pulverizado sobre *A. mellifera*, com 100% de mortalidade às 15 horas após a aplicação e TL_{50} de 6,11 horas.

Os produtos à base de espinosinas têm sido amplamente recomendados para o controle de inúmeros insetos em diversos sistemas de produção (Biondi et al., 2012). O uso de espinosade como agente letal misturado a um atrativo, na forma de iscas tóxicas, vem se tornando comum contra populações de moscas-das-frutas (Piñero et al., 2009; Nava e Botton, 2010; Härter et al., 2015). Além disso, as espinosinas estão substituindo organofosforados e piretroides em todo mundo para o controle desta praga (Biondi et al., 2012).

Os três produtos à base de espinosinas, Success 0,02 CB[®], espinetoram e espinosade mostraram-se levemente tóxicos à *A. mellifera* em aplicação tópica. Em testes de ingestão espinetoram e espinosade (Tracer[®]) mostraram-se moderadamente nocivos. Bailey et al. (2005) concluíram que espinosade apresentou baixo impacto sobre *A. mellifera* em testes de contato residual e pulverização sobre as abelhas. Reduzida toxicidade de espinosade também foi observada para diversos inimigos naturais como ácaros (Phytoseiidae), parasitoides (Braconidae) e predadores (Coccinellidae) (Vargas et al., 2001; Stark et al., 2004; Urbaneja et al., 2009).

Espinosade associado à uma proteína hidrolisada pode ser uma alternativa eficiente para controle de mosca-das-frutas em substituição à pulverização com malationa nos pomares (Hafsi et al., 2015). Por outro lado, estudos recentes mostram que este inseticida foi considerado altamente nocivo em aplicação tópica (Stanley et al., 2015; Tomé et al., 2015). Os resultados desse trabalho mostraram que as espinosinas avaliadas, (espinosade, espinetoram e Success 0,02 CB[®]) em *A. mellifera* apresentaram $TL_{50} > 65$ horas e mortalidades variando entre 37,9 e 52,9% ao final do experimento, sendo os mesmos classificados como levemente nocivos em aplicação tópica e moderadamente nocivos em dieta contaminada.

Besard et al. (2010) concluíram que espinetoram foi mais seguro que espinosad para *Bombus terrestris* em contato direto e exposição oral. No presente trabalho, os resultados

mostraram que os dois inseticidas apresentaram mortalidade similar às 72 horas nos dois modos de exposição, sem apresentar diferença significativa nos tempos letais através de aplicação tópica. Além disso, spinetoram apresentou TL_{50} significativamente menor que espinosade no teste de ingestão, demonstrando maior letalidade em menor espaço de tempo.

Estudos de exposição tópica, contínua e limitada demonstraram que a isca tóxica de pronto uso Success 0,02 CB[®] apresentou toxicidade em vários níveis, dependendo da exposição e o tempo de secagem de superfícies tratadas (Edwards et al., 2003). Por outro lado, Cabrera-Marín et al. (2016) sugerem que o impacto de iscas tóxicas à base de malationa ou GF-120 (Success 0,02 CB[®]) sobre *A. mellifera* é mínimo quando aplicado em taxas de baixa intensidade (80 gotas de 5 mm de diâmetro por metro quadrado). No presente estudo, Success 0,02 CB[®] apresentou TL_{50} elevados e baixa mortalidade nas duas formas de exposição. Assim, considerou-se que esta isca tóxica apresentou baixo risco à *A. mellifera* nos testes de laboratório. Devido à diferença de toxicidade encontrada entre os diferentes inseticidas avaliados em laboratório, sugere-se que experimentos em nível de campo sejam conduzidos para selecionar inseticidas, atrativos, bem como, iscas tóxicas mais seguras à *A. mellifera* e outros polinizadores.

Conclusões

1. As iscas tóxicas Success 0,02 CB[®] e Gelsura[®], bem como os inseticidas malationa, metidationa, fosmete, acetamiprido, espinosade e spinetoram apresentam grau diferenciado de toxicidade para *A. mellifera* em experimentos de laboratório.
2. Os inseticidas malationa, metidationa e alfacipermetrina (Gelsura[®]) apresentaram alta mortalidade de *A. mellifera* através de aplicação tópica e ingestão.
3. É possível selecionar inseticidas menos tóxicos à *A. mellifera* para o manejo de moscas-das-frutas através do uso de iscas tóxicas.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado do primeiro autor e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

Referências

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p.265-267, 1925.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; DE MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.6, p.711-728, 2013.
- ABF - ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2016. 88p. Disponível em: <<http://www.grupogaz.com.br/editora/anuarios/show/5149.html>>. Acesso em: 05 mai. 2016.
- ATKINS, E.L. Injury to honey bees by poisoning. In: Graham, J.M. (Ed.), **The Hive and the Honey Bee**. Dadant and Sons, Hamilton, IL, p.1153–1208. 1998, 1324p.
- BADAWY, M.E.; NASR, H.M.; RABEA, E.I. Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. **Apidologie**, v.46, n.2, p.177-193, 2015.
- BAILEY, J.; SCOTT-DUPREE, C.; HARRIS, R.; TOLMAN, J.; HARRIS, B. Contact and oral toxicity to honey bees (*Apis mellifera*) of agents registered for use for sweet corn insect control in Ontario, Canada. **Apidologie**, v.36. n.4, p.623-633, 2005.
- BESARD, L.; MOMMAERTS, V.; ABDU-ALLA, G.; SMAGGHE, G. Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. **Pest management science**, v.67, n.5, p. 541-547, 2011.

BIDDINGER, D.J.; ROBERTSON, J.L.; MULLIN, C.; FRAZIER, J.; ASHCRAFT, S.A.; RAJOTTE, E.G.; VAUGHN, M. Comparative toxicities and synergism of apple orchard pesticides to *Apis mellifera* (L.) and *Osmia cornifrons* (Radoszkowski). **PLoS One**, v.8, n.9, p. e72587, 2013.

BIONDI, A.; MOMMAERTS, V.; SMAGGHE, G.; VIÑUELA, E.; ZAPPALÀ, L.; DESNEUX, N. The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. **Pest management science**, v.68, n.12, p.1523-1536, 2012

BORGES, R.; MACHOTA Jr. R.; BOFF, M.I.C.B.; BOTTON, M. Efeito de Iscas Tóxicas sobre *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **BioAssay**, v.10, p.1-8, 2015.

BOTTON, M.; ARIOLI, C.J.; MACHOTA JR, R.; NUNES, M.Z.; ROSA, J.M da. Moscas-das-frutas na fruticultura de clima temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de novas formulações de iscas tóxicas e da captura massal. **Agropecuária Catarinense**, v.29, n.2, p.103-108, 2016.

CABRERA-MARÍN, N.V.; LIEDO, P.; SÁNCHEZ, D. The Effect of Application Rate of GF-120 (Spinosad) and Malathion on the Mortality of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Foragers. **Journal of Economic Entomology**, v.109, n.2, p.515-519, 2016.

CARVALHO, S.M.; CARVALHO, G.A.; CARVALHO, C.F.; BUENO FILHO, J.S.S.; BAPTISTA, A.P.M. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.4, p.597-606, 2009.

COSTA, E.M.; ARAUJO, E.L.; MAIA, A.V.; SILVA, F.E.; BEZERRA, C.E.; 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.

DELAPLANE, K.S.; MAYER, D.F. **Crop pollination by bees**. Oxon: CABI Publishing, 2005. 344p.

DEMÉTRIO, C.G.B.; HINDE J.; MORAL, R.A. Models for Overdispersed Data in Entomology. In: FERREIRA, C.P; GODOY, W.A.C, (Eds). **Ecological Modelling Applied to Entomology**, Springer, 2014. p.219–259.

EDWARDS, C.R.; GERBER, C.; HUNT, G. A laboratory study to evaluate the toxicity of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, bait, Success 0.02 CB, to the honey bee, *Apis mellifera*. **Apidologie**, v.34, n.2, p.171-180, 2003.

GARY, N.E.; MUSSEN, E.C. Impact of Mediterranean fruit fly malathion bait spray on honey bees. **Environmental Entomology**, v.13, p.711–717, 1984.

GELS, J.E.; HELD, D.W.; POTTER, D.A. Hazards of insecticides to the bumble bees *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae) foraging on flowering white clover in turf. **Journal of Economic Entomology**, v.95, p.722–728, 2002.

GÓMEZ-ESCOBAR, E.; LIEDO, P.; MONTOYA, P.; VANDAME, R.; SÁNCHEZ, D. Behavioral response of two species of stingless bees and the honey bee (Hymenoptera: apidae) to GF-120. **Journal of economic entomology**, v.107, n.4, p.1447-1449, 2014.

GRISOLIA, C.K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. Brasília: UNB, 2005. 394p.

HAFSI, A.; ABBES, K.; HARBI, A.; RAHMOUNI, R.; CHERMITI, B. Comparative efficacy of Malathion and spinosad bait sprays against *Ceratitis capitata* Wiedmann (Diptera: Tephritidae) in Tunisian citrus orchards. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.3, n.6, p. 246-249, 2015.

HÄRTER, W.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; NAVA, D.E.; DA SILVA, G.R.; BOTTON, M. Isca tóxica e disrupção sexual no controle da mosca-da-fruta sul-americana e da mariposa-oriental em pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.3, p.229-235, 2010.

HÄRTER, W.R.; BOTTON, M.; NAVA, D.E.; GRUTZMACHER, A.D.; DA SILVA GONÇALVES, R.; JUNIOR, R.M.; ZANARDI, O.Z. Toxicities and residual effects of toxic baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 202-208, 2015.

HASSAN, S.A. Activities of the IOBC/WPRS working group pesticides and beneficial organisms. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.17, n.10, p.1-5, 1994.

INGRAM, E.M.; AUGUSTIN, J.; ELLIS, M.D.; SIEGFRIED, B.D. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. **Chemosphere**, v.135, p.272-277, 2015.

KARISE, R.; VIK, E.; MÄND, M.. Impact of alpha-cypermethrin on honey bees foraging on spring oilseed rape (*Brassica napus*) flowers in field conditions. **Pest Management Science**, v.63, n.11, p.1085-1089, 2007.

LAURINO, D.; PORPORATO, M.; PATETTA, A.; MANINO, A. Toxicity of neonicotinoid insecticides to honeybees: laboratory tests. **Bulletin of Insectology**, v.64, n.1, p.107–113, 2011.

LOSEY, J.E.; VAUGHAN, M. The economic value of ecological services provided by insects. **BioScience**, v.56, n.4, p.311-323, 2006.

MAO, W.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M.R. CYP9Q-mediated detoxification of acaricides in the honey bee (*Apis mellifera*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.108, n.31, p.12657-12662, 2011.

MANGAN R.L.; MORENO A. Honey bee foraging preferences, effects of sugars, and fruit fly toxic bait components, **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.1472–1481, 2009.

MORENO, D.S.; MANGAN, R.L. Bait matrix for novel toxicants for use in control of fruit flies (Diptera: Tephritidae), In: HALLMAN, G.J.; SCHWALBE, C. **Invasive arthropods in**

agriculture: problems and solutions. (Ed.). Science Publishers, Inc., Enpheld, NH, 2002, p.333-362.

NAVA, D.E.; BOTTON, M. Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em pessegueiro. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Documentos, 315, 2010, 29 p.

NUNES-SILVA, P.; WITTER, S.; SCHLEMMER, L.; HALINSKI, R.; RAMOS, J.; ARIOLI, C.; BOTTON, M. Visitantes florais e potenciais polinizadores da cultura da macieira. Bento Gonçalves, Embrapa Uva e Vinho, 2016, 16p. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico, 184). Disponível em:

<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144651/1/Comunicado-Tecnico-184.pdf>.

Acesso em: 25 jun. 2016.

NUNES, M.Z.; SANTOS, R.S.; BOFF, M.I.C.; ROSA, J.M. Avaliação de atrativos alimentares na captura de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em pomar de macieira. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v.112, n.2, p.91-96, 2013.

OECD/OCDE, Guidelines For The Testing Of Chemicals Number 213, Honeybees, Acute Oral Toxicity Test, OECD. **Environmental Health and Safety Division**, Paris. 1998a.

PIÑERO, J.C.; MAU, R.F.; VARGAS, R.I. Managing oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae), with spinosad-based protein bait sprays and sanitation in papaya orchards in Hawaii. **Journal of Economic Entomology**, v.102, n.3, p.1123-1132, 2009.

RAGA, A.; SATO, M.E. Effect of spinosad bait against *Ceratitis capitata* (Wied.) and *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in laboratory. **Neotropical Entomology**, v.34, p.815-822, 2005.

RAGA, A.; MACHADO, R.A.; DINARDO, W.; STRIKIS, P.C. Eficácia de atrativos alimentares na captura de moscas-das-frutas em pomar de citros. **Bragantia**, v.65, p.337-345, 2006.

R Core Team. A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2015.

RUIZ, L.; FLORES, S.; CANCINO, J.; ARREDONDO, VALLE, J.J.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; WILLIAMS, T. Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF-120 bait on the tephritid parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v.44, p.296-304, 2008.

RUIZ, C.B. Experiencias en el control de "*Batrocera oleae*, *Ceratitis capitata*" y otras plagas emergentes, en la zona mediterránea, mediante técnicas de "Attract and Kill". **Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal**, n.254, p.50, 2013.

SALOMÉ, J.A. **Polinização dirigida em pomares de macieiras (*Malus doméstica* Borkh) com o uso de colmeias de *Apis mellifera* L.** 2014, 137p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SÁNCHEZ, D.; SOLÓRZANO, E.D.J.; LIEDO, P.; VANDAME, R. Effect of the natural pesticide spinosad (GF-120 formulation) on the foraging behavior of *Plebeia moureana* (Hymenoptera: Apidae). **Journal of economic entomology**, v.105, n.4, p.1234-1237, 2012.

STANLEY, J.; SAH, K.; JAIN, S.K.; BHATT, J.C.; SUSHIL, S.N. Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honeybees, *Apis cerana* and *A. mellifera* through laboratory, semi-field and field studies. **Chemosphere**, v.119, p.668-674, 2015.

STARK J.D.; VARGAS, R.I.; MILLER, N. Toxicity of Spinosad in Protein Bait to Three Economically Important Tephritid Fruit Fly Species (Diptera: Tephritidae) and Their Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Economic Entomology**, v.97, p.911-915, 2004.

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, 2015.

URBANEJA A.; CHUECA, P.; MONTÓN. H.; PASCUAL-RUIZ. S.; DEMBILIO, O. Chemical alternatives to malathion for controlling *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and their side effects on natural enemies in Spanish citrus orchards. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.144-151. 2009.

USDA. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>> acesso em: 17 mai. 2010.

VARGAS, R.I.; PECK, S.L.; MCQUATE, G.T.; JACKSON, C.G.; STARK, J.D. Potential for area-wide integrated management of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) with a braconid parasitoid and a novel bait spray. **Journal of Economic Entomology**, v.94, p.817-825, 2001.

VILLA, S.; VIGHI, M.; FINIZIO, A.; SERINI, G.B. Risk assessment for honeybees from pesticide-exposed pollen. **Ecotoxicology**, v.9, n.4, p.287-297, 2000.

ZUCOLOTO, E.S. Alimentação e nutrição de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.;

Tabela 1. Descrição dos Inseticidas, iscas tóxicas e doses avaliadas quanto à toxicidade sobre *Apis mellifera* em laboratório.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Grupo químico	D.C. ¹	g .i.a L ¹
Malathion 1000 EC [®]	Malationa	Organofosforado	150	1,5
Suprathion 400 EC [®]	Metidationa	Organofosforado	100	0,48
Imidan 500 WP [®]	Fosmete	Organofosforado	200	1,0
Tracer 480 SC [®]	Espinosade	Espinosinas	20	0,096
Mospilan 200 SP [®]	Acetamiprido	Neonicotinoide	40	0,080
Delegate 25 WG [®]	Espinectoram	Espinosinas	30	0,025
Iscas tóxicas de pronto uso				
Success 0,02 CB [®]	Espinosade	Espinosinas	1L:1,5 L ²	0,024
Gelsura [®]	Alfacipermetrina	Piretroide	1L:2,0 L ²	0,060

¹D.C. = Dosagem da formulação comercial (g ou mL.100 L⁻¹). g: gramas, mL: mililitros.

²Proporção em dose do produto comercial diluído em água.

Tabela 2. Mortalidade de *Apis mellifera* corrigida através da equação de Abbott (1925) para aplicação tópica dos inseticidas e ingestão de dieta contaminada.

Ingrediente ativo	Aplicação tópica	Mortalidade (%)		
		Classe*	Ingestão ¹	Classe*
Malationa	100	4	100	4
Alfacipermetrina ²	100	4	100	4
Metidationa	100	4	91,1	3
Fosmete	63,2	2	66,6	2
Acetamiprido	54,0	2	44,4	2
Espinosade	52,9	2	87,8	3
Spinetoram	44,8	2	94,4	3
Espinosade ³	37,9	2	48,9	2

¹Ingestão de dieta contaminada (inseticida + Sacarose 50%). ^{2,3}Iscas tóxicas de pronto uso;

²Gelsura[®]; ³Success 0,02 CB[®]. *Classes da IOBC/WPRS: 1= inócuo (<30%), 2= levemente nocivo (30-79%), 3=moderadamente nocivo (80-99%), 4= nocivo (>99%).

Tabela 3. Tempos letais (em horas) de inseticidas e iscas tóxicas de pronto uso após a aplicação tópica sobre *Apis mellifera* em laboratório.

Ingrediente ativo	TL ₅₀	EP	IC (95%)	
Grupo 1: Controle	>72*	2,08	50,80	>72*
Grupo 2: Espinosade ¹	>72*	1,12	59,52	>72*
Grupo 3: Acetamiprido, Spinetoran, Espinosade	66,15	1,04	61,65	70,99
Grupo 4: Fosmete	55,65	1,05	50,45	61,39
Grupo 5: Metidationa	3,74	1,16	2,78	5,04
Grupo 6: Malationa	3,22	1,11	2,61	3,98
Grupo 7: Alfacipermetrina ²	1,75	1,09	1,46	2,09

^{1,2}Iscas de pronto uso; ¹Success; ²Gelsura. EP: Erro padrão da média, IC: Intervalos de confiança. *Tempo estimado superior ao período de realização do experimento e fora do intervalo de interpolação.

Tabela 4. Tempos letais em horas após o oferecimento de dieta contaminada com inseticidas e iscas tóxicas de pronto uso à *Apis. mellifera*.

Ingrediente ativo	TL ₅₀	EP	IC (95%)	
Controle	>72*	1,56	>72*	>72*
Acetamiprido	>72*	1,80	>72*	>72*
Espinosade ¹	65,67	1,06	58,66	>72*
Spinetoran	27,06	1,06	24,08	30,40
Espinosade	20,21	1,08	17,28	23,65
Fosmete	18,06	1,35	10,00	32,59
Metidationa	2,32	1,28	1,42	3,78
Malationa	1,00	1,26	0,64	1,57
Alfacipermetrina ²	0,71	1,21	0,49	1,03

^{1,2}Iscas de pronto uso; ¹Success 0,02 CB; ²Gelsura. EP: Erro padrão da média, IC: Intervalos de confiança. *tempo estimado superior ao período de realização do experimento e fora do intervalo de interpolação.

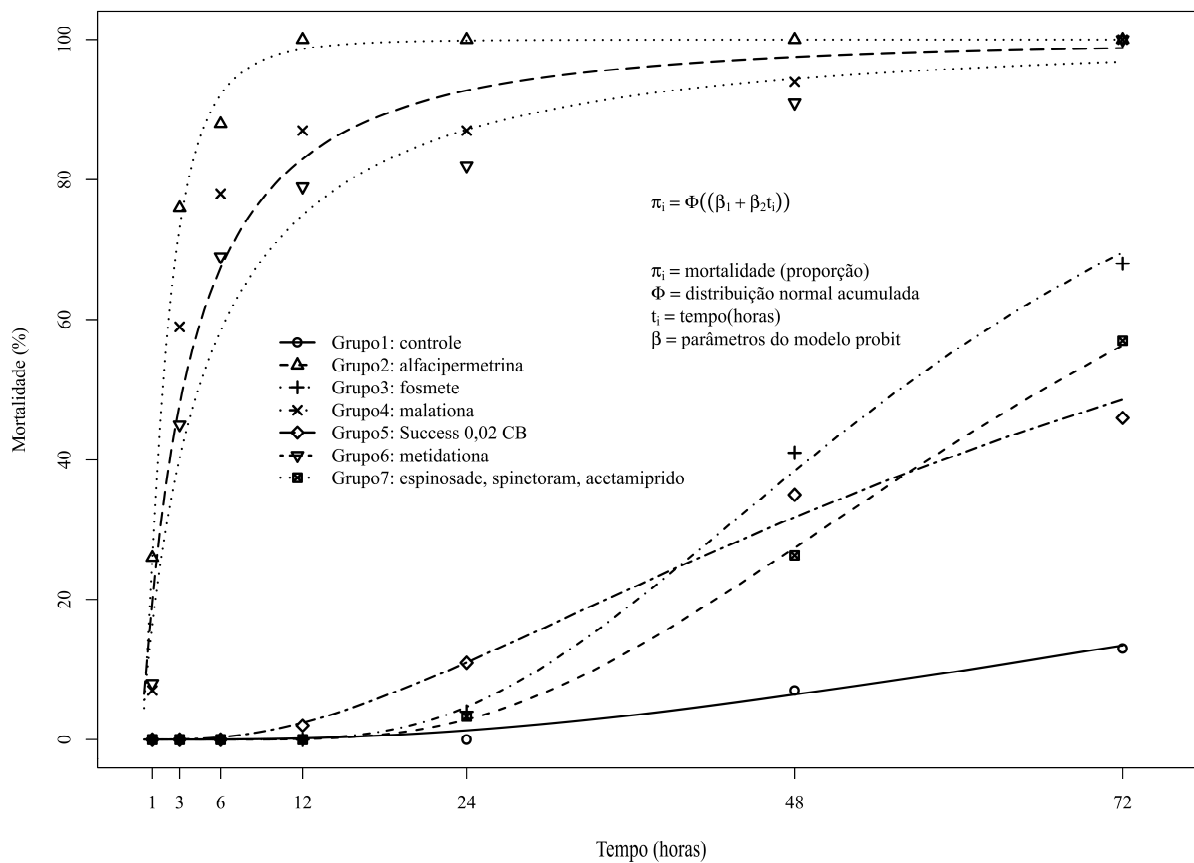


Figura 1. Mortalidade de *Apis mellifera* após a aplicação tópica de inseticidas e iscas tóxicas de pronto uso utilizadas na cultura da macieira.

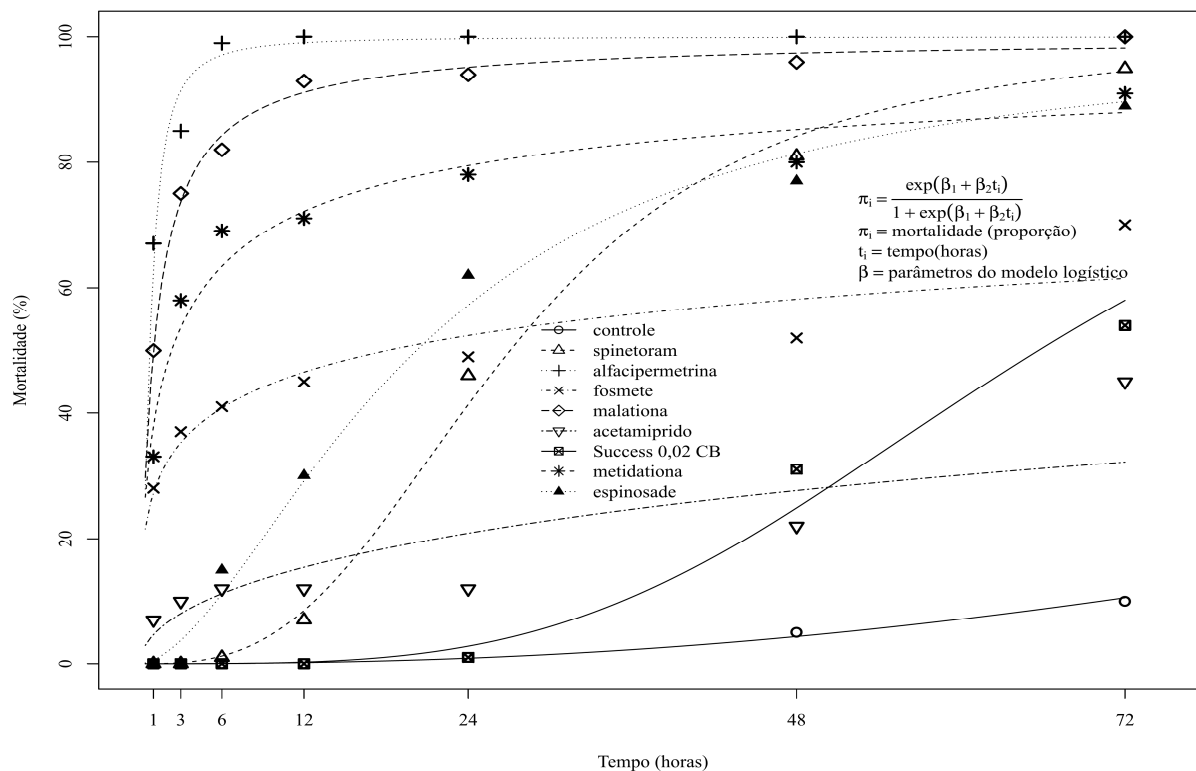


Figura 2. Mortalidade de *Apis mellifera* após o fornecimento de dieta contaminada com os inseticidas utilizados em formulações de iscas tóxicas.

ARTIGO 3 – Journal of Economic Entomology

Versão em português

**ATRATIVIDADE E REPELÊNCIA DE ISCAS TÓXICAS USADAS NO CONTROLE
DE MOSCAS-DAS-FRUTAS SOBRE O FORRAGEAMENTO DE *Apis mellifera***

JOATAN MACHADO DA ROSA; CRISTIANO JOÃO ARIOLI; ALINE COSTA
PADILHA; ANDERSON DIONEI GRÜTZMACHER; MARCOS BOTTON.

Rosa et al.: Atratividade e repelência
de iscas tóxicas sobre *A. mellifera*

Journal of Economic Entomology
Ecology and Behavior Section

J. M. da Rosa
Universidade Federal de Pelotas,
Departamento de Fitossanidade
Campus Capão do Leão, Caixa Postal
354, 96010-900
Pelotas, RS, Brazil
Phone: +55 (53) 3275-7253
E-mail: joatanmachado@gmail.com

Atratividade e repelência de iscas tóxicas usadas no controle de mosca-das-frutas sobre o forrageamento de *Apis mellifera*

Attractiveness and repellence of toxic baits used for controlling fruit flies on the foraging behavior of *Apis mellifera*

J. M. da Rosa¹, C. J. Arioli², A. C. Padilha¹, A. D. Grützmacher¹, Betina Blochtein³ and M. Botton⁴

¹ Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, Capão do Leão, RS, 96010-610, Brazil

² EPAGRI, Estação Experimental de São Joaquim, Rua João F. Nunes, 102, Jardim Caiçara, São Joaquim, SC, 88600-000, Brazil

³ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, Porto Alegre, RS, 90619-900

⁴ Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento, 515, Bento Gonçalves, RS, 95700-000, Brazil

Resumo

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a atratividade e repelência de diferentes componentes e formulações de iscas tóxicas empregadas no controle de mosca-das-frutas sobre *Apis mellifera* em experimentos de campo. No período de 2014 a 2016, foi avaliada a repelência e a atratividade em testes com e sem chance de escolha dos componentes usados na formulação de iscas tóxicas: Anamed, Biofruit 3%, Flyral 1,25% e melado de cana-de-açúcar 7%, preparados com ou sem o inseticida Malathion 1000 CE (1,5 mL p.c /L) e as iscas tóxicas comerciais Success 0,02 CB (1:1,5 de água) e Gelsura (1:2 de água). Como controle foi utilizado mel puro nos experimentos de repelência e água e mel a 30% nos experimentos de atratividade. As formulações foram oferecidas sobre estações artificiais de forrageio instaladas a 30 metros de um apiário de abelhas africanizadas. Em ambos os testes, as abelhas foram previamente treinadas a visitar as estações. A isca de pronto uso Gelsura apresentou repelência com 88,1% das abelhas visitando o controle (mel) em condições semelhantes. O mesmo efeito foi observado nas estações contendo Anamed com e sem inseticida, as quais foram visitadas por 16,2% e 16,7% das abelhas. Nos testes com e sem chance de escolha, os ingredientes e iscas tóxicas de pronto uso não foram atrativos ao forrageio por *A. mellifera*. Pelo modo de utilização dessa tecnologia, com baixo volume e aplicações localizadas, associado ao desinteresse pelo forrageio por *A. mellifera*, conclui-se que os componentes e atrativos, nas doses avaliadas são seletivos ao polinizador durante o forrageio.

Palavras-chave: abelha melífera, Tephritidae, recrutamento, comportamento.

Abstract

This work aimed to study the attractiveness and repellence of different compounds and toxic bait formulations used for controlling fruit flies on *Apis mellifera* in field tests during 2014 and 2016. The compounds evaluated were: Anamed, Biofruit 3%, Flyral 1,25%, sugarcane molasses 7%, prepared with or without the insecticide Malathion 1000 CE (1.5 mL c.p/L) and the ready-to-use toxic baits Success 0,02 CB (1:1.5 of water) and Gelsura (1:2 of water). We used honey as control in the experiments of repellency and water and honey 30% in the experiments of attractiveness. The formulations were provided on artificial foraging stations that were set 30 meters apart of Africanized beehives. In both tests, the bees were previously trained to visit the stations. The pre-formulated bait Gelsura showed significant repellence effect, were 88.1% of the bees preferred to visit the control. Similarly, stations containing Anamed with and without insecticide were visited by 16.2% and 16.7% of bees during the evaluations. Both choice and no-choice tests, the compounds and pre-formulated toxic baits were not attractive to the bees on foraging tests. Due to the low sprayed volume and applications made in specific areas, associated to the disinterest for these compounds by *A. mellifera*, we conclude that the compounds and attractants evaluated are selective and exhibit low risk of contamination during the *A. mellifera* foraging.

Key-words: honey bee, Tephritidae, recruiting, behavior.

Introdução

As moscas-das-frutas da família Tephritidae, principalmente aquelas do gênero *Anastrepha* e *Ceratitis*, constituem um dos principais problemas fitossanitários no cultivo e domesticação de frutíferas em condições tropicais e subtropicais do Brasil. Estes insetos possuem grande importância econômica, tanto pela variedade de hospedeiros nativos e/ou cultivados, quanto por sua ampla distribuição, ocorrendo desde o México até o Sul da Argentina (Garcia 2009). No sul do Brasil, destaca-se a mosca-das-frutas Sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) a qual é a principal praga das frutíferas de clima temperado (Nava e Botton 2010, Gonçalves et al. 2016, Machota Jr. et al. 2016). Em geral ao emergirem, os adultos de moscas-das-frutas necessitam se alimentar de fontes com açúcares para sobreviver (Zucolotto et al. 2000) e fontes proteicas também são requeridas pelas fêmeas para assegurar a sua fecundidade e desenvolvimento dos ovos (Heath 1993). Por estes motivos, iscas tóxicas têm sido utilizadas como estratégia de manejo para a redução das populações de adultos de moscas-das-frutas (Nava e Botton 2010, Härter et al. 2015, Borges et al. 2015).

Esta técnica de controle tem como base a aplicação de um atrativo alimentar associado a um inseticida em um sistema atrai e mata e tem sido utilizada com sucesso na supressão populacional de diversas espécies de mosca-das-frutas em várias regiões do mundo (Stark et al. 2004, Chueca et al. 2007, Ruiz et al. 2008, Härter et al. 2015). Dois fatores principais devem ser considerados na escolha dos atrativos para formulação de iscas tóxicas: uma grande capacidade atrativa, o que favorece a aproximação da mosca-das-frutas à isca, e o efeito fagoestimulante ou resposta alimentar, a qual induz o inseto a consumir o alimento (Vargas et al. 2002, Pelz et al. 2005). Entretanto, estes fatores devem ser inversamente proporcionais

quando se tratam do efeito sobre polinizadores e inimigos naturais presentes nas áreas tratadas, os quais não devem ser comprometidos pelo uso da tecnologia.

Diversos ingredientes estão sendo recomendados para elaboração de iscas tóxicas no Brasil, e estas podem conter como atraentes substâncias açucaradas, componentes proteicos e voláteis de plantas (Borges et al. 2015).

A maioria das iscas tóxicas é preparada pelos agricultores na propriedade precedendo a aplicação. Os atrativos mais utilizados são o melaço de cana-de-açúcar (5 a 7%) e a proteína hidrolisada (1 a 3%), adicionando-se um inseticida organofosforado à calda (Raga et al 2006, Härter et al. 2010; Borges et al. 2015). Um novo atrativo alimentar (Anamed) também tem sido utilizado para o controle de moscas, principalmente na cultura da macieira (Borges et al. 2015). Este atrativo possui a tecnologia de liberação SPLAT (Specialized Pheromone & Lure Application Technology) (Mafra-Neto et al. 2013, Faleiro et al. 2016), composto por atrativos proteicos identificados pela Empresa Isca Tecnologias, havendo a necessidade de mistura com um agente letal à formulação.

Dentre as iscas tóxicas de pronto uso destaca-se o Success 0,02 CB, conhecido internacionalmente como GF-120 (Prokopy et al. 2004, Mangan e Moreno 2009), o qual possui o inseticida espinosade na sua formulação misturado à compostos fagoestimulantes, atrativos alimentares à base de proteínas, entre outros componentes (Mangan e Moreno 2004). Recentemente está sendo desenvolvida no mercado brasileiro, a isca tóxica de pronto uso Gelsura, composta por um gel concentrado numa matriz de polímeros com atrativos alimentares, paraferomônio e o piretroide alfacipermetrina como agente letal (Ruiz 2013).

A aplicação de iscas tóxicas pode ser considerada uma opção menos impactante do ponto de vista ambiental, em função da aplicação localizada e do menor volume de inseticida empregado nos pomares (Botton et al. 2014). Entretanto, existe uma possibilidade de que os

componentes utilizados em iscas tóxicas, principalmente àqueles à base de açúcares, apresentem efeito de atração sobre insetos não-alvo.

Organismos benéficos são afetados por diversas práticas de controle de pragas que incorporam inseticidas (Cabrera-Marín et al. 2015). Dentre estes, destaca-se a abelha africanizada *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae), considerada o principal agente dos serviços de polinização dirigida na cultura da macieira no sul do Brasil (Salomé 2014). Segundo Paudel et al. (2015), *A. mellifera* é responsável por até 100% da fertilização das flores da macieira, constituindo-se em peça fundamental no desenvolvimento da cultura. Por este motivo, em algumas situações seria interessante que iscas tóxicas não apresentassem efeito de atração à *A. mellifera* (Mangan e Moreno 2009) e até mesmo que alguns compostos pudessem apresentar efeito de repelência (Malerbo-Souza e Couto 1998), reduzindo a propensão a intoxicações de abelhas campeiras e da colônia.

Mangan e Moreno (2009) desenvolveram bioensaios em nível de campo para avaliar a atratividade da isca tóxica GF-120 e de seus componentes sobre *A. mellifera*. Rieth (1986) desenvolveu estações artificiais de forrageamento com o objetivo de avaliar o efeito a repelência de inseticidas piretroides sobre *A. mellifera*. Utilizando metodologia semelhante, Ingram (2013) aperfeiçoou a técnica de contagem com o auxílio de tomadas de imagens em períodos subsequentes de forrageamento ao longo dos dias para avaliar o número de visitas de *A. mellifera* às estações artificiais contendo um atrativo em meio líquido e placas flutuantes pulverizadas com inseticidas piretroides.

Atualmente, informações a respeito do real efeito das iscas tóxicas sobre as abelhas africanizadas usadas nos serviços de polinização dirigida no Brasil são inexistentes. O fato de algumas formulações usadas no Brasil apresentarem carboidratos (melaço de cana-de-açúcar), proteínas (Biofruit, Flyral) e outros atraentes (Anamed, Success 0,02 CB, Gelsura) em sua composição podem, em hipótese, influenciar negativamente o comportamento de

forrageamento e recrutamento, bem como favorecer possíveis intoxicações. Este trabalho teve como objetivo avaliar em nível de campo, a atratividade e repelência de componentes e formulações de iscas tóxicas empregadas no controle de mosca-das-frutas sobre a abelha africanizada *Apis mellifera*.

Material e Métodos

As avaliações foram realizadas no Apiário experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), no município de São Joaquim, Santa Catarina, Brasil (28° 17' 38" S; 49° 55' 54" W, altitude: 1410 m). A região caracteriza-se por apresentar clima temperado (mesotérmico úmido com verão seco) e a temperatura média anual em torno de 13 °C (Alvares et al. 2013). A estação é composta por unidades ou quadras experimentais contendo plantios de macieira, ameixeira, goiabeira serrana, pessegueiro e videira. O apiário é composto por 10 colmeias de abelhas africanizadas. As colônias são mantidas em caixa tipo americana ou Langstroth, cada uma composta por 10 quadros. A saúde e estado fisiológico das colônias foram frequentemente verificadas antes e depois dos ensaios.

A metodologia utilizada teve como base os trabalhos de atratividade do GF-120 e seus componentes, realizada por Mangan e Moreno (2009) e de repelência à piretroides (Rieth 1986, Ingram 2013).

Atrativos e formulações avaliadas

Nos experimentos de atratividade e repelência com chance de escolha, os tratamentos avaliados foram: a) Gelsura (1:2 de água) (BASF S.A, SP, Brasil), SP); b) Success 0,02 CB (1:1.5 de água) (Dow AgroScience, Santo Amaro, SP, Brasil); c) Anamed (Isca Tecnologias

Ltda., Ijuí, RS, Brasil) sem diluição; d) Flyral 1,25% (Bioiberica S.A, Barcelona, Spain); e) Biofruit 3% (BioControle – Métodos de Controle de Pragas Ltda., Indaiatuba, SP) e f) Melaço de cana-de-açúcar (7%). Os atrativos foram avaliados com e sem a adição do inseticida Malathion 1000 CE (1,5 mL/L). No teste de atratividade sem chance de escolha foram testadas as iscas tóxicas Gelsura (1:2 de água), Success 0,02 CB (1:1,5 de água) e os atrativos Anamed, melaço de cana-de-açúcar (7%), Biofruit (3%), Flyral (1,25%), sem a adição de inseticidas. No experimento sem chance de escolha foi utilizada solução de água e mel 30% como controle atrativo.

Instalação do experimento

Os experimentos de campo foram realizados nos meses de janeiro e fevereiro de 2014, 2015 e 2016, período de crescimento dos frutos e momento no qual as aplicações de iscas tóxicas são mais comuns no Brasil. Estações artificiais de forrageamento foram instaladas a 30 m do apiário (Figura 1). As abelhas passaram por um treinamento durante dois dias para reconhecimento do local conforme metodologia usada por Mangan e Moreno (2009). O treinamento foi realizado com uma solução de água e açúcar a 30% *ad libitum*, a qual foi depositada diariamente às 8:00 horas da manhã, permanecendo por quatro horas, servindo de alimento às abelhas. No dia subsequente ao treinamento, o experimento foi instalado no mesmo horário. Novamente foi oferecido placas com solução de açúcar 30% às 8:00 horas da manhã, precedendo o início dos ensaios.

A partir do momento que foi constatada a presença de no mínimo 25 abelhas por estação, as placas de treinamento foram retiradas sendo iniciados os experimentos. O delineamento experimental em blocos casualizados com nove repetições foi utilizado para os testes de atratividade e repelência, com chance de escolha. Cada bloco consistiu em três estações de avaliação para formulações preparadas na propriedade: 1) Atrativo + inseticida, 2)

Atrativo sem inseticida e 3) Controle. Para as iscas de pronto uso foram utilizadas duas estações: 1) Isca tóxica e 2) Controle. No experimento de atratividade o controle usado foi água e mel a 30%, enquanto que no experimento de repelência, água destilada foi utilizada como controle.

Para os testes com chance de escolha, o número de abelhas *A. mellifera* visitando as estações foi registrado a cada 10 minutos através de fotografias, totalizando nove tomadas diárias de imagens para cada tratamento as quais corresponderam às repetições (Figura 1C). Os experimentos foram repetidos durante oito dias favoráveis ao forrageamento das abelhas (dias ensolarados e com temperatura acima de 16 °C).

Posteriormente, o número de abelhas nas imagens foi contado em cada intervalo e tratamento. Após cada tomada de imagem, as unidades experimentais, bem como os blocos foram rotacionadas para evitar memorização e recrutamento em estações específicas e para que todas as estações tivessem a mesma probabilidade de serem visitadas.

Repelência de iscas tóxicas e componentes sobre o forrageamento de *A. mellifera*.

Nos testes de repelência, cada estação foi composta por um prato plástico de 23 cm de diâmetro e 5 cm de altura. No interior do prato, foi colocada uma placa de petri com 15 cm de diâmetro servindo de suporte para a placa de aplicação (Figura 1A). A placa de aplicação consistiu de um círculo de isopor (10 cm de diâmetro, 4 mm de espessura e área de 78,54 cm²) sobre a qual foi anexado um papel filtro de mesma área (Figura 1B). Baldes plásticos de 45 cm de altura foram utilizados como suporte às estações de forrageamento (Figura 1C), conforme metodologia utilizada por Ingram (2013).

As iscas tóxicas foram aplicadas sobre a placa através de micropipeta simulando uma aplicação no campo, com gotas 40 microlitros, entre 4 a 5 mm de diâmetro, distanciadas em aproximadamente 1,5 cm entre si. Para a aplicação do atrativo Anamed (de consistência

pastosa) foi utilizada uma seringa graduada. Com o objetivo de atrair as abelhas até as estações artificiais contendo as iscas tóxicas e/ou ingredientes da formulação, depositou-se, no centro placa 1,42 gramas de mel puro perfazendo uma área de aproximadamente 20 mm de diâmetro (Figura 1A). A aplicação do mel foi feita com auxílio de uma pistola de aplicação graduada (Figura 1D).

Avaliou-se o possível efeito repelente de componentes e/ou formulações de iscas tóxicas sobre o forrageamento de mel, que é o elemento mais atrativo à *A. mellifera*. A reposição do mel no centro da placa foi realizada à medida que a dose (1,42 g) era totalmente consumida. Este procedimento foi realizado para evitar a falta do atrativo padrão no centro da placa e para fins de avaliação do consumo de mel em cada tratamento ao final de cada dia de avaliação.

Atratividade de iscas tóxicas e ingredientes para *A. mellifera*

As estações artificiais de forrageamento foram confeccionadas com o mesmo prato plástico utilizado no teste de repelência. Entretanto, uma placa de isopor (14 cm de diâmetro e 4 mm de espessura) foi colocada no fundo do prato e sobre esta placa foram colocadas tiras de tecido absorvente (TNT) com área de 10 x 2 x 0,3 cm (Figura 2A). Em cada tira foi aplicado 10 mL de cada tratamento avaliado.

Os tratamentos e doses utilizados no teste de atratividade foram os mesmos usados no teste de repelência, assim como o delineamento experimental, número de tomada de imagens por dia e número de dias de avaliação.

Comportamento de forrageamento de *A. mellifera* em iscas tóxicas de pronto uso e atrativos em teste sem chance de escolha

Utilizando adaptações à metodologia descrita por Mangan e Moreno (2009), foram realizados testes sem chance de escolha para avaliar o forrageamento de *A. mellifera* sobre iscas tóxicas de pronto uso e componentes atrativos usados em iscas tóxicas preparadas pelos agricultores na propriedade. O experimento foi realizado em dias ensolarados e com ausência de vento. Utilizaram-se as mesmas estações artificiais de forrageamento descritas no teste de atratividade (Figura 2A).

Abelhas foram treinadas a forragear estações artificiais contendo solução de açúcar 30% durante dois dias precedentes ao início dos testes. No terceiro dia, às 8:00 da manhã, novamente foi oferecido açúcar 30%. A partir do momento que foram observadas 25 abelhas forrageando em cada estação retiraram-se os pratos contendo açúcar 30% e foram oferecidos pratos contendo mel a 30%. Após cinco minutos foi realizada uma tomada de imagem em cada estação contendo mel a 30%. Na sequência o mel 30% foi substituído das oito estações de forrageamento, as quais imediatamente receberam um tratamento específico.

Cinco tomadas de imagens subsequentes foram feitas em cada estação em intervalos de cinco minutos. Ao final de cada avaliação, as placas contendo solução de açúcar a 30% eram oferecidas novamente e o processo para a avaliação de um novo tratamento era iniciado. Todos os tratamentos foram avaliados no mesmo dia e o experimento foi repetido por cinco dias.

Análises estatísticas

Nos experimentos de repelência e atratividade, as contagens de visitas às estações foram determinadas e analisadas para cada ponto de tempo. Dados referentes ao número de visitas em cada estação de forrageamento foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ para estabilizar a variância e após foram submetidos à ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$) para investigar possíveis diferenças significativas na intensidade de forrageamento

ao longo do tempo. As análises foram feitas através do ambiente R, versão 3.2.1 (2015). Nos testes de repelência, para os tratamentos que apresentaram diferença significativa em relação ao controle serão apresentados os percentuais relativos ao número total de visitas. Devido à ausência de forrageamento nos tratamentos em teste de atratividade sem chance de escolha, não foram realizadas análises estatísticas, apenas serão apresentados os dados médios de forrageamento em cada dia de avaliação.

Resultados

Efeito de repelência sobre o forrageio de *A. mellifera*

Das quatro iscas tóxicas e seus componentes testados em 2014, apenas o Anamed oferecido puro ou em mistura com o inseticida malationa foi repelente ($P = 0,002$) entre os momentos 1 a 7 (Figura 3). Entretanto, nas duas últimas tomadas de imagens, aos 80 e 90 minutos após o início dos experimentos, não houve diferença significativa entre os tratamentos contendo Anamed e o controle contendo água destilada ($P = 0,09$). Placas contendo Anamed puro ou em mistura com malationa apresentaram percentual total de visitas de 16,2% e 16,7%, enquanto que no controle o percentual foi de 67,1% ao final do experimento.

Formulações contendo Biofruit ($P = 0,926$) e melação de cana-de-açúcar a 7% ($P = 0,899$) não apresentaram efeito repelente ao forrageio, mesmo quando misturados ao inseticida malationa (Figura 3). Da mesma forma, as estações contendo Success 0,02 CB foram visitadas ao longo de 90 minutos de avaliação, sem apresentar diferenças significativas em relação ao controle ($P = 0,993$), demonstrando ausência de qualquer efeito repelente que pudesse influenciar no forrageio.

Em janeiro e fevereiro de 2015, quando o experimento para avaliar a repelência foi repetido, estações de forrageamento contendo a isca tóxica de pronto uso Gelsura apresentaram número significativamente menor número de visitas ($P = 0,0006$) em todos os momentos de avaliação (Figura 3). Durante oito dias de experimento, apenas 11,9% das abelhas foram observadas nas placas contendo a isca tóxica Gelsura.

O efeito repelente com níveis de forrageamento significativamente menores foi novamente observado em 2015, no tratamento contendo Anamed puro ou em mistura com malationa ($P = 0,0001$) em todos os momentos de avaliação (Figura 3). Durante todo o experimento, 84,5% das abelhas optaram pelo forrageamento na estação controle, em detrimento das estações contendo Anamed puro ou em mistura, onde apenas 7,8% e 7,7% das abelhas optaram pelo forrageamento, respectivamente. A proteína Flyral 1,25%, pura ou em mistura com inseticida, não apresentou efeito significativo de repelência ao forrageio de *A. mellifera* ($P = 0,714$) em nenhum dos momentos observados (Figura 3).

Em relação ao consumo de mel sobre as placas, em 2014 apenas Anamed com e sem inseticida malationa apresentaram redução significativa de consumo ($P = 0,0001$) quando comparados ao controle (Tabela 1). Durante os oito dias de avaliação em cada estação de forrageamento, a presença de Biofruit com ou sem inseticida ($P = 0,613$), melão de cana-de-açúcar 7% com ou sem inseticida ($P = 1,00$) e Success 0,02 CB ($P = 0,334$) não foram suficientes para limitar a alimentação e o forrageamento do mel oferecido no centro da placa.

Nos experimentos conduzidos, a interferência significativa no consumo de mel foi observada novamente nos tratamentos contendo Anamed ($P = 0,0001$) e na isca tóxica de pronto uso Gelsura ($P = 0,0001$) (Tabela 1). Estações contendo a proteína hidrolisada Flyral 1,25%, não foram significativamente diferentes do controle e apresentaram níveis de consumo similares ($P = 0,397$).

Atratividade de *A. mellifera* para iscas tóxicas e componentes

Durante os testes de atratividade em, os componentes Biofruit, Anamed, melão de cana-de-açúcar 7% e a isca tóxica de pronto uso Success 0,02 CB não foram atrativos à *A. mellifera* nas estações de forrageamento ($P > 0,05$). O número de visitas nestes tratamentos ficaram próximos a zero durante os oito dias de avaliação (Tabela 2). Mesmo com a realização da rotação dos blocos e dos pratos, as abelhas sobrevoavam as estações, mas pousavam no controle.

Em 2015, novamente foi avaliado o Anamed com ou sem inseticida malationa, bem como a proteína Flyral 1,25% e a isca tóxica de pronto uso Gelsura. Os resultados novamente mostraram que as abelhas não foram atraídas pelos componentes e iscas tóxicas oferecidas (Tabela 2). Durante o experimento, o número de visitas ficou próximo de zero, com exceção dos controles que apresentaram forrageamento constante.

Teste de atratividade sem chance de escolha

Os resultados do experimento sem chance de escolha mostraram uniformidade comportamental das abelhas durante os cinco dias de avaliação. As tiras de TNT absorvente das estações contendo mel a 30% foram rapidamente ocupadas e forrageadas durante os cinco minutos de oferecimento que precederam o oferecimento ao tratamento a ser avaliado.

Na sequência, quando se substituiu o mel a 30% das estações e imediatamente foi oferecido um tratamento em todas as estações, o forrageamento foi praticamente nulo (Tabela 3). Durante os cinco dias de avaliação, o tratamento avaliado que apresentou maior número total de abelhas foi o melão de cana-de-açúcar 7%, onde oito abelhas foram registradas. Em compensação, em cinco minutos precedendo o oferecimento do melão de cana-de-açúcar 7%, 1207 abelhas foram registradas no tratamento controle.

Discussão

Os resultados dos experimentos de repelência indicaram que, das seis formulações de iscas tóxicas para a supressão populacional de moscas-das-frutas no Brasil, apenas duas apresentaram poder repelente capaz de afastar as abelhas campeiras de uma fonte de alimento extremamente atrativa, como o mel, utilizado como atraente neste trabalho.

Anamed oferecido puro ou em mistura com o inseticida malationa apresentou efeito significativo de repelência ao forrageio de *A. mellifera* nos dois anos avaliados, bem como interferiu significativamente no consumo de mel nas estações de forrageamento. Da mesma forma, a isca tóxica de pronto uso Gelsura que possui o inseticida alfacipermetrina apresentou efeito significativo de repelência, reduzindo o número de visitas às estações. O consumo de mel nas placas contendo Gelsura também foi significativamente menor. As abelhas apresentaram comportamento semelhante a cada avaliação. Placas contendo Gelsura eram sobrevoadas e ignoradas pelas abelhas, as quais se moviam para o controle e pousavam sobre a placa contendo apenas mel puro cercado por gotas de água destilada na placa.

Segundo Ingram et al. (2015), os piretroides têm sido reportados por representar um risco reduzido às abelhas, devido às suas baixas taxas de aplicação no campo e às suas propriedades repelentes. Estes autores destacam que esta repelência pode alterar o comportamento de forrageamento evitando com que as abelhas entrem em contato no campo. Por outro lado, Karise et al. 2007 descartaram um possível efeito de repelência do inseticida alfacipermetrina sobre *A. mellifera*. Flores de *Brassica napus* foram pulverizadas com alfacipermetrina e após 24 horas os níveis de forrageamento de *A. mellifera* foram avaliados. Durante três anos, os autores observaram que as flores pulverizadas foram forrageadas de maneira semelhante ao controle e descartaram um possível efeito repelente. Em hipótese, o significativo efeito repelente sobre *A. mellifera* apresentado pelo atrativo de mosca-das-frutas

Anamed e pela isca tóxica de pronto uso Gelsura se deve a algum dos componentes em sua fórmula. Entretanto, as propriedades químicas dos dois produtos comerciais ainda não estão acessíveis. O estudo sobre repelentes à polinizadores associados às iscas tóxicas e outros agrotóxicos apresentam-se como uma alternativa amigável para se obter iscas atrativas às moscas-das-frutas e repelentes à insetos não alvo.

Os demais tratamentos não apresentaram efeito repelente sobre *A. mellifera* nos experimentos de campo. As abelhas visitaram as estações para forrageio de mel sem apresentar qualquer perturbação com a presença de Biofruit, melão de cana-de-açúcar 7% e Flyral 1,25%, oferecidos com e sem a presença do inseticida malationa. Resultados semelhantes foram observados para a isca tóxica de pronto uso Success 0,02 CB. Segundo Mangan e Moreno (2009), os componentes usados na isca tóxica GF-120 (Success 0,02 CB no Brasil) foram repelentes ao forrageio de *A. mellifera*. Utilizando metodologia distinta em experimentos com abelhas nativas e *A. mellifera*, Gómez-Escobar et al. (2014) mostraram que GF-120 misturado com mel (40% GF-120: 50% mel: 10% água) foi considerado repelente para as abelhas *Trigona fulviventris* (Hymenoptera: Apidae) e para *Scaptotrigona mexicana* (Hymenoptera: Apidae), entretanto não desencorajou o forrageamento de *A. mellifera*. Sánchez et al. (2012) relataram que a formulação GF-120 não foi rejeitada pela abelha sem ferrão *Plebeia moureana* (Hymenoptera: Apidae), quando misturado com solução de sacarose em uma época de escassez de alimento. Assim, estes autores supõem que abelhas forrageiras de *P. moureana* também não serão desencorajadas a coletar néctar em uma área tratada com GF-120.

Nossos resultados mostraram que a presença de Success 0,02 CB não interferiu no número de visitas e no consumo de mel nas estações de forrageamento, consequentemente não apresentou efeito repelente para *A. mellifera*. Entretanto destacamos que a metodologia utilizada em nosso ensaio pode ser considerada drástica, já que oferece mel puro (componente

extremamente atrativo) sobre placas contendo Success 0,02 CB. Por outro lado, o estudo torna evidente e conclusivo que abelhas que não visitam estações contendo uma quantidade de mel rodeada de certa substância, estão sendo efetivamente repelidas.

Uma hipótese levantada por técnicos e fruticultores é que as iscas formuladas com melaço de cana de açúcar a 7% apresentassem a capacidade de atrair e serem forrageadas por *A. mellifera*. Entretanto, nos experimentos de atratividade com chance de escolha e sem chance de escolha, observou-se que, o melaço de cana-de-açúcar na concentração de 7% não se mostrou atrativo ao forrageamento de *A. mellifera*. Resultados semelhantes foram observados para todos os componentes e iscas tóxicas de pronto uso avaliadas. Nos experimentos com chance de escolha, o forrageamento do controle contendo mel 30% foi constante durante todas as avaliações, por outro lado, os componentes e iscas tóxicas oferecidas não atraíram *A. mellifera* até as estações. Das poucas abelhas que pousaram sobre as placas, nenhuma apresentou interesse em se alimentar dos tratamentos e logo alçavam voo.

Nos testes de atratividade sem chance de escolha, observou-se que rapidamente as abelhas se acumularam sobre as estações contendo mel a 30%. Em seguida, quando as oito estações foram trocadas por um dos tratamentos avaliados, as visitas sobre as placas foram cessadas. Num primeiro momento, as abelhas sobrevoavam as estações, entretanto não pousavam sobre as placas. Este comportamento foi observado durante os cinco dias de avaliação. Dessa forma ficou evidente que nenhum dos componentes testados estava apto para alimentação e forrageio.

Com base nos resultados obtidos, foi demonstrado que os componentes e iscas tóxicas utilizadas para o controle de mosca-das-frutas não foram atrativos à *A. mellifera*. Além disso, Anamed e Gelsura apresentaram efeito significativo de repelência à *A. mellifera* reduzindo o número de visitas às estações de forrageamento. Dessa forma, considera-se que é seguro o emprego dessas formulações para o manejo da praga, preservando-se o principal polinizador

da cultura da macieira no Brasil. No entanto é fundamental que sejam conduzidos novos estudos para outras espécies de abelhas polinizadoras, visto que há diferença comportamental de forrageamento entre espécies (Sánchez et al. 2012, Gómez-Escobar et al. 2014).

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado do primeiro autor e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

Referências Citadas

Alvares, C. A., J. L. Stape, P. C. Sentelhas, G. de Moraes, J. Leonardo, and G. Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorol. Z. 22: 711-728.

Borges, R., R. Machota Jr, M. I. Boff, and M. Botton (2015). Efeito de Iscas Tóxicas sobre *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). BioAssay. 10:1-8.

Botton, M.; Arioli, C.J.; Machota Jr, R.; Nunes, M.Z.; Rosa, J.M. DA. Moscas-das-frutas na fruticultura de clima temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de novas formulações de iscas tóxicas e da captura massal. Agropecuária catarinense, n.2, v.29, 103-107, 2016.

Botton, M., D. E. Nava, C. J. Arioli, A. D. Grützmacher, J. M. da Rosa, R. Machota Jr, and R. Borges. 2014. Supressão necessária. Cultivar HF. 12: 10-13.

Cabrera-Marín, N. V., P. Liedo, R. Vandame, and D. Sánchez. 2015. Foraging allocation in the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae), tuned by the presence of the spinosad-based pesticide GF-120. *Neotrop. Entomol.* 44: 166-172.

Chueca, P., H. Montón, J. L. Ripollés, P. Castañera, E. Moltó, and A. Urbaneja. 2007. Spinosad bait treatments as alternative to malathion to control the mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in the Mediterranean Basin. *J. Pestic. Sci.* 32: 407-411.

Dow Agrosciences. 2006. Naturalyte fruit fly bait. Techn. Bull. Dow CI: 0326.

Faleiro, J. R., A. M. Al-Shawaf, A.M. Al-Dandan, A. Al-odhayb, A. Al-Rudayni, A.B. Abdallah, M.P. Peixoto, R. Vargas, M. Botton, S. Chidi, R. Borges and A. Mafra-Neto. 2016. Controlled release products for managing insect pests. *Out. Pest Manag.* 27: 1-6.

Garcia, F.R.M. 2009. Fruit fly: biological and ecological aspects. *In* R.R, Bandeira (ed.). Current trends in fruit flies control on perennial crops and research prospects. Kerala: Transworld Research Network.

Gómez-Escobar, E., P. Liedo, P. Montoya, R. Vandame, and D. Sánchez 2014. Behavioral response of two species of stingless bees and the honey bee (Hymenoptera: apidae) to GF-120. *J. Econ. Entomol.* 107: 1447-1449.

Gonçalves, R. S., F. Andreazza, H. Lisbôa, A. D. Grützmacher, R. A. Valgas, R. Manica-Berto, and D. E. Nava. 2016. Basis for the Development of a Rearing Technique of *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) in *Anastrepha fraterculus* (Tephritidae: Diptera). *J. Econ. Entomol.* 109: 1094-1101, 2016.

Härter, W. R., A. D. Grützmacher, D. E. Nava, R. da S. Gonçalves, and M. Botton. 2010. Isca tóxica e disrupção sexual no controle da mosca-da-fruta sul-americana e da mariposa-oriental em pessegueiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 45: 229-235.

Härter, W. R., M. Botton, D. E. Nava, A. D. Grützmacher, R. da S. Gonçalves, R. Machota Jr, and O. Z. Zanardi. 2015. Toxicities and residual effects of toxic baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 98: 202-208.

Heath, R. R. 1993. Development of attractants for monitoring Caribbean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 76: 233-244.

Ingram, E. M. 2013. Toxic and repellent effects of pyrethroids used in orchards on the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Ph.D. dissertation, University of Nebraska, Lincoln.

Ingram, E. M., J. Augustin, M. D. Ellis, and B. D. Siegfried. 2015. Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. *Chemosphere.* 135: 272-277.

Karise, R., E. Viik, and M. Mänd. 2007. Impact of alpha-cypermethrin on honey bees foraging on spring oilseed rape (*Brassica napus*) flowers in field conditions. *Pest Manag. Sci.* 63:1085-1089.

Machota Jr, R., L. C. Bortoli, F. R. Cavalcanti, M. Botton, and A. D. Grützmacher. 2016. Assessment of injuries caused by *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) on the incidence of bunch rot diseases in table grape. *Neotrop. Entomol.* 45: 361-368.

Mafra-Neto, A., F. M. De Lame, C. J. Fettig, A. S. Munson, T. M. Perring, L. Stelinski, and R. I. Vargas. 2013. Manipulation of insect behavior with specialized pheromone and lure application technology (SPLAT[®]). *Pest Management with Natural Products*: 1141: 31-58.

Malerbo-Souza, D. T., and R. H. Nogueira-Couto. 2004. Efficiency of n-octyl-acetate, 2-heptanone and citronellal in repelling bees from basil (*Ocimum sellovii* - Labiatae). *Braz. arch. biol. technol.* 47: 121-125.

Malerbo-Souza, D. T., R. H. Nogueira-Couto, L. A. Couto, and J. C. D. Souza. 2003. Atrativo para as abelhas *Apis mellifera* e polinização em café (*Coffea arabica* L.). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 40: 272-278.

Mangan, R. L., and A. Moreno. 2009. Honey bee foraging preferences, effects of sugars, and fruit fly toxic bait components. *J. Econ. Entomol.* 102: 1472-1481.

Mangan, R. L., D. S. Moreno, and B. N. Barnes. 2004. Dilution and persistence of baits and safer pesticides for spray application. *In Proceedings, 6th International Symposium on fruit*

flies of economic importance, 6-10 May 2002, Stellenbosch, South Africa. Isteg Scientific Publications.

Menzel, R., U. Greggor, and M. Hammer. 1993. Functional organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the honey bee, pp. 79-125. *In* D. R. Papaj and A. C. Lewis (eds), *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives*. Chapman & Hall, New York.

Nava, D. E., and M. Botton. 2010. Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em pessegueiro. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Documentos, 315, 29 p.

Paudel, Y. P., R. Mackereth, R. Hanley, and W. Qin. 2015. Honey bees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: current status, impacts and potential drivers of decline. *J. Agric. Sci.* 7: 93.

Pelz, K. S., R. Isaacs, J. C. Wise, and L. J. Gut. 2005. Protection of fruit against infestation by apple maggot and blueberry maggot (Diptera: Tephritidae) using compounds containing spinosad. *J. Econ. Entomol.* 98: 432-437.

Prokopy, R. J., N. W. Miller, J. C. Piñero, L. Orde, N. Chaney, H. Revis and R. I. Vargas. 2004. How effective is GF-120 fruit fly bait spray applied to border area sorghum plants for control of melon flies (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 87: 354-360.

R Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015.

Raga, A., R. A. Machado, W. Dinardo, P. C. Strikis. 2006. Eficácia de atrativos alimentares na captura de moscas-das-frutas em pomar de citros. *Bragantia*. 65: 337-345.

Rieth, J. P. 1986. The repellent effect of pyrethroid insecticides on honey bees. Ph.D. dissertation, University of Arizona, USA.

Ruiz, C. B., S. L. Basf Española. 2013. Experiencias en el control de "*Batrocera oleae*, *Ceratitis capitata*" y otras plagas emergentes, en la zona mediterránea, mediante técnicas de "Attract and Kill". *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*. 254:50.

Ruiz, L., S. Flores, J. Cancino, J. Arredondo, J. Valle, F. Díaz-Fleischer, and T.

Williams. 2008. Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF-120 bait on the tephritid parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control*. 44: 296-304.

Salomé, J. A. 2014. Polinização dirigida em pomares de macieiras (*Malus doméstica* Borkh) com o uso de colmeias de *Apis mellifera* L. Ph.D. dissertation, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Sánchez, D., E. D. J. Solórzano, P. Liedo, and R. Vandame. 2012. Effect of the natural pesticide spinosad (GF-120 formulation) on the foraging behavior of *Plebeia moureana* (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 105: 1234-1237.

Stark, J. D., R. I. Vargas, and N. Miller. 2004. Toxicity of spinosad in protein bait to three economically important tephritid fruit fly species (Diptera: Tephritidae) and their parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). *J. Econ. Entomol.* 97: 911-915.

Tautz, J. 2010. O fenômeno das abelhas. Editora artmed, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, BR. p. 288.

Vargas, R. I., N. W. Miller, and R. J. Prokopy. 2002. Attraction and feeding responses of Mediterranean fruit fly and a natural enemy to protein baits laced with two novel toxins, phloxine B and spinosad. *Entomol. Exp. Appl.* 102: 273-282.

Villar, L., M. C. M. Cruz, R. A. Moreira, and P. N. Curi. 2010. Atrativos alimentares na flutuação populacional de moscas-das-frutas e abelha irapuá. *Sci. Agrar. Paran.* 9:67-73.

Tabela 1. Atividade de alimentação de *Apis mellifera* nas estações de forrageamento contendo iscas tóxicas e seus componentes e consumo médio de mel por dia de avaliação.

Avaliações					
2014			2015		
Tratamentos	Consumo (g) ¹	CV%	Tratamentos	Consumo (g) ¹	CV%
Biofruit	12,60±0,18a		Flyral	12,60±0,17a	
Biofruit + malationa	12,60±0,19a	3,2	Flyral + malationa	12,25±0,26a	2,3
Controle	12,78±0,00a		Controle	12,78±0,18a	
Melaço	12,60±0,19a				
Melaço + malationa	12,60±0,18a	3,8			
Controle	12,78±0,18a		Gelsura	5,33±0,52a	19,7
Success 0,02 CB	12,60±0,19a		Controle	11,00±0,92b	
Controle	12,78±0,00a	2,8			
Anamed	7,10±0,93b		Anamed	7,10±0,73a	
Anamed + malationa	6,90±0,98b	38,7	Anamed + malationa	5,68± 0,81a	19,1
Controle	12,60±0,19a		Controle	12,25±0,38b	

¹Consumo de mel (gramas) no centro da placa. Experimento repetido por oito dias. Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

Controle: placa com aplicação de água destilada.

Tabela 2. Número médio de visitas de *Apis mellifera* nas estações de forrageamento em teste de atratividade com chance de escolha. São Joaquim, janeiro e fevereiro de 2014 e 2015.

Número médio de visitas (\pm EP) ¹							
Imagem ²	Controle	Anamed	Anamed + malationa	Imagem	Controle	Melaço	Melaço + malationa
1	57,2 \pm 9,3a	0,0b	0,0b	1	41,2 \pm 9,8a	0,7b	0,3b
2	51,6 \pm 8,6a	0,0b	0,0b	2	48,0 \pm 9,5a	0,6b	0,2b
3	48,6 \pm 8,2a	0,0b	0,0b	3	40,0 \pm 8,3a	0,8b	0,0b
4	44,5 \pm 6,4a	0,0b	0,0b	4	34,3 \pm 5,6a	0,3b	0,3b
5	38,3 \pm 7,5a	0,0b	0,0b	5	48,9 \pm 7,2a	0,3b	0,2b
6	56,4 \pm 8,4a	0,0b	0,0b	6	51,9 \pm 9,6a	0,1b	0,3b
7	50,0 \pm 5,5a	0,0b	0,0b	7	40,0 \pm 5,3a	0,4b	0,0b
8	47,3 \pm 9,3a	0,0b	0,0b	8	42,6 \pm 5,7a	0,6b	0,1b
9	40,1 \pm 6,9a	0,0b	0,0b	9	36,4 \pm 6,1a	0,5b	0,2b

Imagem	Controle	Biofruit	Biofruit + malationa	Imagem	Controle	Success 0,02 CB
1	46,8 \pm 11,0a	0,2b	0,2b	1	35,0 \pm 9,4a	0,1b
2	41,1 \pm 6,8a	0,2b	0,3b	2	44,6 \pm 8,4a	0,4b
3	37,7 \pm 6,3a	0,2b	0,1b	3	33,4 \pm 6,0a	0,2b
4	36,5 \pm 5,4a	0,2b	0,0b	4	35,0 \pm 5,4a	0,2b
5	34,1 \pm 7,4a	0,3b	0,2b	5	40,3 \pm 7,3a	0,1b
6	54,9 \pm 7,1a	0,4b	0,2b	6	37,2 \pm 7,1a	0,3b
7	51,0 \pm 6,5a	0,1b	0,1b	7	37,0 \pm 4,2a	0,0b
8	48,0 \pm 9,2a	0,1b	0,1b	8	41,7 \pm 4,6a	0,0b
9	42,5 \pm 9,0a	0,5 b	0,2 b	9	40,0 \pm 8,3a	0,3 b

Imagem	Controle	Flyral ³	Flyral + malationa	Imagem	Controle	Gelsura ³
1	38,1 \pm 3,5a	0,1b	0,0b	1	37,4 \pm 4,6a	0,1b
2	48,3 \pm 2,8a	0,0b	0,0b	2	39,1 \pm 3,1a	0,2b
3	55,1 \pm 4,4a	0,0b	0,0b	3	46,1 \pm 2,4a	0,1b
4	68,4 \pm 3,6a	0,0b	0,0b	4	38,7 \pm 3,0a	0,0b
5	59,2 \pm 4,0a	0,1b	0,0b	5	41,6 \pm 2,8a	0,0b
6	60,3 \pm 5,1a	0,0b	0,0b	6	46,6 \pm 3,1a	0,1b
7	55,2 \pm 4,5a	0,0b	0,0b	7	40,5 \pm 2,9a	0,0b
8	61,1 \pm 2,5a	0,0b	0,0b	8	42,8 \pm 3,3a	0,1b
9	68,8 \pm 3,9a	0,0b	0,0b	9	52,2 \pm 3,4a	0,0b

¹EP: Erro padrão da média. ²Captura de imagens em cada ponto de tempo. ³Avaliados apenas em 2015. Médias dos tratamentos e do controle seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). Variação do erro padrão dos tratamentos: 0,10 a 0,43.

Tabela 3. Número médio de visitas de *Apis. mellifera* às estações artificiais de forrageamento em teste sem chance de escolha. São Joaquim, janeiro de 2016.

Tratamentos	Número médio de visitas ¹				
	dia 1	dia 2	dia 3	dia 4	dia 5
Mel 30% ²	24,1	32,6	28	36	30,1
Melaço	0,03	0,08	0,08	0	0,03
Mel 30%	24,8	32,9	35,1	32	29,6
Biofruit	0	0	0	0	0
Mel 30%	22	29,3	38,5	31,9	29,5
Anamed	0	0	0	0	0
Mel 30%	40	36,6	34,5	37,8	31,5
Flyral	0,03	0	0	0	0
Mel 30%	51,8	31,8	32,9	36,1	39
Success 0,02 CB	0,03	0	0	0	0
Mel 30%	37,5	29,5	28,3	32,6	34,1
Gelsura	0,03	0,03	0	0	0

¹Número médio de abelhas na estação artificial no momento da tomada de imagem. ²Controle atrativo oferecido nos primeiros cinco minutos do experimento. Testes com cinco tomadas de imagens por dia por tratamento; experimento repetido durante cinco dias.

Figura 1. Estação artificial de forrageamento (A). Placa de aplicação utilizada em teste de repelência (B). Tomada de imagens (C). Reposição do alimento consumido com pistola graduada (D).



Figura 2. Estação artificial usada para avaliações de atratividade (A). Em destaque, tira de tecido TNT usada para aplicação dos tratamentos e contagem de abelhas através das imagens (B).

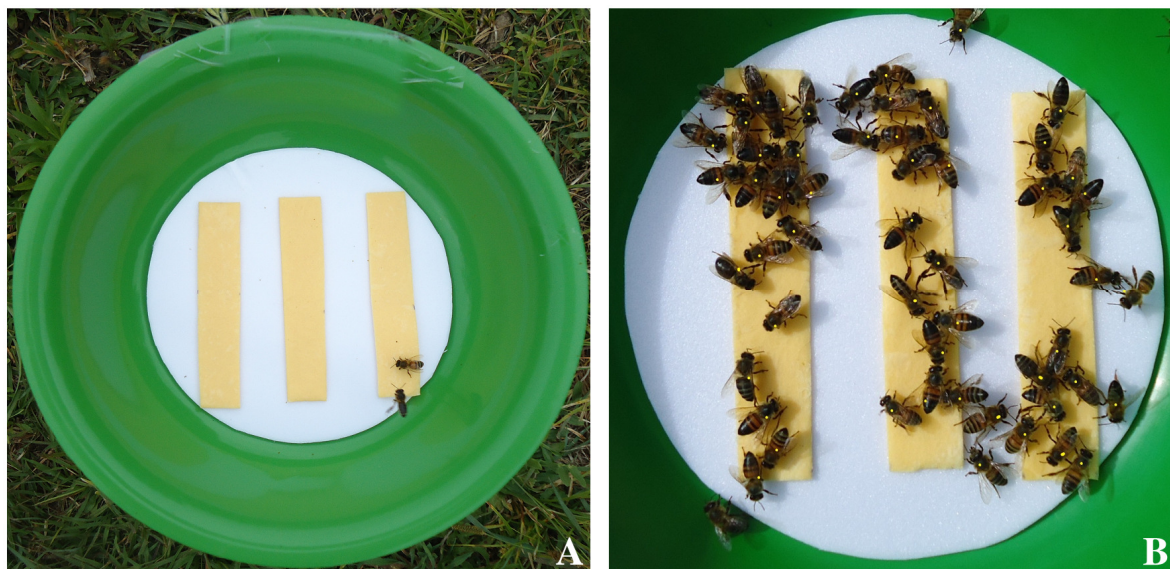
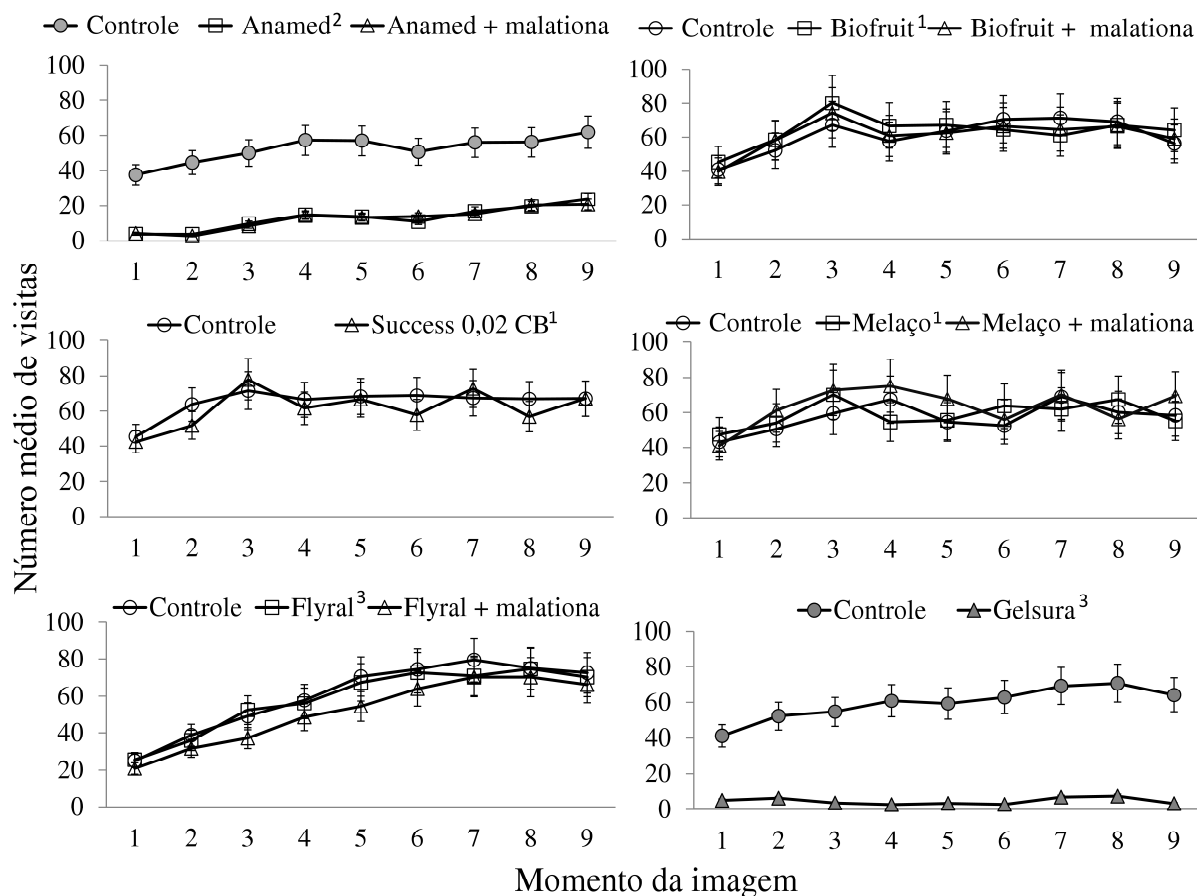


Figura 3. Número médio de visitas de *A. mellifera* em cada momento de imagem sobre estações artificiais de forrageamento contendo ingredientes e formulações de iscas tóxicas associadas ao inseticida malationa (Malathion 1000 CE 1,5 mL/L). Marcadores preenchidos apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). São Joaquim, janeiro e fevereiro de 2014 e 2015.



¹Avaliações em 2014. ²Média de dois anos de avaliações (2014 e 2015). ³Avaliações em 2015.

Experimentos repetidos por oito dias.

Conclusões

A Produção Integrada de Maçã (PIM) é o modelo produtivo utilizado pela maioria dos maleicultores em São Joaquim, SC e Vacaria, RS.

A polinização dirigida é utilizada por mais de 90% dos maleicultores em ambas as regiões e a maioria aluga colméias.

Em média, são utilizadas três colmeias por hectare nos pomares de São Joaquim e Vacaria durante a floração com custo médio de R\$ 57,30 e R\$ 56,60 por colmeia alugada, respectivamente.

Durante a floração, agrotóxicos são utilizados por 97,2% e 100% dos entrevistados em São Joaquim e Vacaria. O maior percentual médio de mortalidade de colônias durante a floração foi relatado em Vacaria, 14,8%.

Em laboratório, independente da forma como as abelhas foram expostas, os inseticidas malationa, alfacipermetrina (Gelsura[®]) e metidationa causaram grande mortalidade de *A. mellifera*.

Os inseticidas spinetoram e espinosade são levemente nocivos em aplicação tópica e moderadamente nocivos quando oferecidos em dieta contaminada. Os inseticidas fosmete, acetamiprido e a isca tóxica Success 0,02 CB[®] são levemente nocivos à *A. mellifera* nas duas formas de exposição.

É possível selecionar ingredientes ativos com menor letalidade para *A. mellifera* incluindo as formulações de iscas tóxicas.

Em experimentos de campo, a isca de pronto uso Gelsura[®] e o atrativo para mosca-das-frutas Anamed[®] repelem *A. mellifera*.

Nos testes de atratividade, com e sem chance de escolha, iscas tóxicas de pronto uso e ingredientes nas doses avaliadas não são atrativos à *A. mellifera*.

Referências

- ABF. **Anuário brasileiro de fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Gazeta, Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/editora/anuarios/show/5149.html>. Acesso em: 10 mai. 2016.
- ABROL, D.P. **Pollination Biology**. 1. ed. Netherlands: Springer Science Business Media, 2012. 792 p.
- APACAME. **Produtores de maçã locam colmeias para assegurar polinização eficaz e obter mais qualidade e produtividade**. Revista Mensagem doce: São Paulo, RS, 2014, 2014. 1p. Disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/128/apiculturamigratoria.html>. Acesso em: 10 jan. 2016.
- NORA, I.; HICKEL, E. Pragas da macieira: dípteros e lepidópteros. In: EPAGRI (Ed.). **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri, 2006. cap.15, p.463-486.
- BELLOWS, T.S.; FISHER, T.W. Enhanced Biological Control through Pesticide Selectivity. In: Bellows, T.S.; FISHER, T.W. **Handbook of Biological Control**. Academic Press. 1999, 1046 p.
- BORGES, R.; MACHOTA Jr, R.; BOFF, M.I.C.; BOTTON, M. Efeito de Iscas Tóxicas sobre *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **BioAssay**, v.10, p.1-8, 2015.
- BORGES, R. **Avaliação e seleção de novas formulações de iscas tóxicas para *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em laboratório e em pomares de macieira**. 2011. 75f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em produção Vegetal. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.
- BOTTON, M.; ARIOLI, C.J.; MACHOTA JR, R.; NUNES, M.Z.; ROSA, J.M. da. Moscas-das-frutas na fruticultura de clima temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de novas formulações de iscas tóxicas e da captura massal. **Agropecuária Catarinense**, v.29, n.2, p.103-108, 2016.
- BREEZE, T.D.; BAILEY, A.P.; BALCOMBE, K.G.; POTTS, S.G. Pollination services in the UK: How important are honeybees?. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.142, n.3, p.137-143, 2011.

CABRERA-MARÍN, N.V.; LIEDO, P.; VANDAME, R.; SÁNCHEZ, D. Foraging Allocation in the Honey Bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), Tuned by the Presence of the Spinosad-Based Pesticide GF-120. **Neotropical entomology**, v.44, n.2, p.166-172, 2015

CABRERA-MARÍN, N.V., LIEDO, P.; SÁNCHEZ, D. The Effect of Application Rate of GF-120 (Spinosad) and Malathion on the Mortality of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Foragers. **Journal of economic entomology**, v.109, n.2, p.515-519, 2016.

CHUECA, P.; MONTÓN, H. RIPOLLÉS, J.L.; CASTAÑERA, P.; MOLTÓ, E.; URBANEJA, A. Spinosad bait treatments as alternative to malathion to control the mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in the Mediterranean Basin. **J. Pestic. Sci.** v.32, n.1, p.407-411, 2007.

DEVILLERS, J.; PHAM-DELEGUE, M.H.; DECOURTYE, A.; BUDZINSKI, H.; CLUZEAU, S.; MAURIN, G. Structure-toxicity modeling of pesticides to honey bees. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v.13, n.7-8, p.641-648, 2002.

DEVINE G.J.; FURLONG M.J.; Insecticide use: contexts and ecological consequences, **Agriculture and Human Values**, v.24, n.1, p.281-306, 2007,

EPAGRI - **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, 2006. 743p.

FALEIRO, J.R.; AL-SHAWAF, A.M.; AL-DANDAN, A.M.; AL-ODHAYB, A.; AL-RUDAYNI, A.; ABDALLAH, A.B.; PEIXOTO, M.P.; VARGAS, R.; BOTTON, M.; CHIDI, S.; BORGES, R.; MAFRA-NETO, A. Controlled release products for managing insect pests. **Outlooks on Pest Management**, v.27, n.1, p.1-6, 2016.

FREITAS, B.M.; NUNES-SILVA, P. Polinização agrícola e sua importância no Brasil. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V.L; CANHOS, D.A.L.; ALVES, D.; SARAIVA, A.M. **Polinizadores no Brasil. Contribuição e Perspectivas Para a Biodiversidade, Uso Sustentável, Conservação e Serviços Ambientais**. São Paulo: EDUSP, 2012, 488p.

FREITAS, B.M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.A. Importância Econômica da Polinização. **Revista Mensagem Doce**, v.80, n.1, p.16-20, 2005.

GARCIA F.R.M.; NORRBOM, A.L. Tephritoid flies (Diptera, Tephritoidea) and their plant hosts from the state of Santa Catarina in southern Brazil. **The Florida Entomologist**, n.94, p.51-157, 2011

GARRATT, M.P.; BREEZE, T.D., JENNER, N.; POLCE, C.; BIESMEIJER, J.C.; POTTS, S.G. Avoiding a bad apple: insect pollination enhances fruit quality and economic value. **Agriculture, ecosystems & environment**, v.184, p.34-40, 2014.

GÓMEZ-ESCOBAR, E.; LIEDO, P.; MONTOYA, P.; VANDAME, R.; SÁNCHEZ, D. Behavioral response of two species of stingless bees and the honey bee

(Hymenoptera: apidae) to GF-120. **Journal of economic entomology**, v.107, n.4, p.1447-1449, 2014.

GRAVENA, S. **Manual Prático de Manejo Ecológico de Pragas dos Citros**. Jaboticabal: Gravena, 2005. 372p.

HÄRTER, W. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; NAVA, D. E.; GONÇALVES, R. S.; BOTTON, M. Isca tóxica e disrupção sexual no controle da mosca-das-frutas sul-americana e da mariposa-oriental em pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.229-235, 2010.

HÄRTER, W.R.; BOTTON, M.; NAVA, D.E.; GRUTZMACHER, A.D.; DA SILVA GONÇALVES, R.; JUNIOR, R.M.; ZANARDI, O.Z. Toxicities and residual effects of toxic baits containing spinosad or malathion to control the adult *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v.98, n.1, p.202-208, 2015.

HASSAN, S.A. BIGLER, F.; BLAISINGER P. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS working group "Pesticides and Beneficial Organisms". **EPPO Bulletin**, Oxford, v.15, p.214-255, 1985.

HASSAN, S.A. Activities of the IOBC/WPRS working group pesticides and beneficial organisms. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.17, n.10, p.1-5, 1994.

HICKEL, E.R. **Pragas das fruteiras de clima temperado no Brasil: guia para o manejo integrado de pragas**. Florianópolis: Epagri, 2008,170 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014. **Estados**. SIDRA: Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=rs>. Acesso em: 05 jan. 2016

IOBC - International Organization for Biological control. West Palaearctic Regional Section. Working Group "**Pesticides and Beneficial Organisms**". Disponível em: <http://www.iobc-wprs.org/>. Acesso em: 04 mar. 2016.

KEARNS, C.A.; INOUE, D.W. Pollinators, flowering plants, and conservation biology. **Bioscience**, v.47, p.297–306, 1997.

KLEIN, A.M.; VAISSIERE, B.E.; CANE, J.H.; STEFFANDEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society**, v.274, p.303-313, 2007.

LOSEY, J. E.; VAUGHAN, M. The economic value of ecological services provided by insects. **BioScience**, v.56, n.4, p.311-323, 2006.

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R.L.; URAMOTO, K.; MALAVASI, A. Moscas-das-frutas nos Estados Brasileiros: Rio Grande do Sul. p.285-290. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000, 327p.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L.G. **Manejo de pragas na produção integrada de maçãs**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 7p. (Circular Técnica, 34).

KOVALESKI, A.; SANTOS, R.S.S. Manual de identificação e controle de pragas da macieira. p.32-42. In: VALDEBENITO-SANHUEZA RM, NACHTIGALL GR, KOVALESKI A, SANTOS RSS, SPOLTI P. **Manual de identificação e controle de doenças, pragas e desequilíbrio nutricional da macieira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008, 58p.

LORENZATO, D. Controle integrado de mosca-das-frutas em fruteiras rosáceas. **Ipagro Inf**, v.31, p.93-96, 1988.

MALASPINA, O.; SOUZA, T.F; ZACARIN, E.C.M; CRUZ, A.S.; JESUS, D. Efeitos provocados por agrotóxicos em abelhas no Brasil. p.41-48. In: **Anais do VIII Encontro sobre Abelhas**. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2008, 763 p.

MANGAN, R. L.; MORENO, D.S.; BARNES, B.N. Dilution and persistence of baits and safer pesticides for spray application. In: **Proceedings of the 6th International Symposium on fruit flies of economic importance, Stellenbosch, South Africa, 6-10 May 2002**. Isteg Scientific Publications, p.305-312, 2004.

MANGAN, R.; MORENO, A.T. Honey bars and fruit fly toxic bait components. **Journal of Economic Entomology**, v.102, n.4, p.1472-1481, 2009.

MCGREGOR, S.E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture, vol. 496, 1976, 411p.

MOTTA, M.V. **Análise Sistêmica da Cadeia Produtiva da Maçã na Região Sul do Brasil: Uma Perspectiva do Desempenho 2010**. 126f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pósgraduação em Administração. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul – RS, 2010.

MORENO, D.S.; MANGAN, R.L. Bait matrix for novel toxicants for use in control of fruit flies (Diptera: Tephritidae), In: HALLMAN, G.J.; SCHWALBE, C. **Invasive arthropods in agriculture: problems and solutions**. (Ed.). Science Publishers, Inc., Enpheld, NH, p.333-362, 2003.

NAVA, D.E.; BOTTON, M. **Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em pessegueiro**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 29p. (Documentos, 315).

NORA, I.; HICKEL, E. Pragas da macieira: dípteros e lepidópteros. **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri, p. 463-486, 2006.

OECD/OCDE - Guidelines For The Testing Of Chemicals Number 213, Honeybees, Acute Oral Toxicity Test, OECD. **Environmental Health and Safety Division**, Paris. 1998a.

OECD/OCDE - Guidelines For The Testing Of Chemicals Number 214, Honeybees, Acute Contact Toxicity Test, OECD. **Environmental Health and Safety Division**, Paris. 1998b.

OEPP - Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products – Sideeffects on honeybees. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, v.22, p.203–216, 1992.

OEPP - Decision making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, v.23, p.151–165, 1993.

ORTH, A.I.; SEZERINO, A.A.; SALOMÉ, J.A. Manejo da polinização e o problema da diminuição da população de abelhas domésticas. **Agropecuária Catarinense**, v.25, p.47-52, 2012.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals?. **Oikos**, v.120, n.3, p.321-326, 2011.

PATRON, E. Polinización com abejas. In: BESSONE, J.F. (Ed.). Editorial Campo & Abejas – Edición especial: **Polinización**. Buenos Aires: Agencia Periodística CID, p.4-15, 2010.

PAUDEL, Y.P.; MACKERETH, R.; HANLEY, R.; QIN, W. Honey bees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: current status, impacts and potential drivers of decline. **Journal of Agricultural Science**, v.7, n.6, p.93, 2015.

PETRI, J.L.; LEITE, G.B.; COUTO, M. FRACESCATTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de fruticultura**, v.1, p.48-56, 2011.

PETTIS, J.S.; LICHTENBERG, E.M.; ANDREE, M.; STITZINGER, J.; ROSE, R. Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. **PLoS One**, v.8, n.7, p.e70182, 2013.

PROKOPY, R.J.; MILLER, N.W.; PIÑERO, J.C.; ORIDE, L.; CHANEY, N.; REVIS, H.; VARGAS, R.I. How effective is GF-120 fruit fly bait spray applied to border area sorghum plants for control of melon flies (Diptera: Tephritidae)? **Florida Entomologist**, v.87, n.3 p. 354-360, 2004.

PROTAS, J.F.S.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2003. 192p.

RAGA, A.; MACHADO, R.A.; DINARDO, W.; STRIKIS, P.C. Eficácia de atrativos alimentares na captura de moscas-das-frutas em pomar de citros. **Bragantia**, v.65, n.2, p.337-345, 2006.

RUIZ, L.; FLORES, S.; CANCINO, J.; ARREDONDO, J.; VALLE, J.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; WILLIAMS, T. Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF-120 bait on the tephritid parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v.44, p.296-304, 2008.

RUIZ, C.B., S.L. Basf Española. Experiencias en el control de "Batrocera oleae, Ceratitis capitata" y otras plagas emergentes, en la zona mediterránea, mediante técnicas de "Attract and Kill". **Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal**, n.254, p.50, 2013.

SALOMÉ, J.A. **Polinização dirigida em pomares de macieiras (*Malus doméstica* Borkh) com o uso de colmeias de *Apis mellifera* L.** 2014. 137p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SALLES, L.A.B.; KOVALESKI, A. Moscas-das-frutas em macieira e pessegueiro no Rio Grande do Sul. **Horti Sul**, v.3, p.5-9, 1990.

SALLES, L.A.B. Isca tóxica para o controle de adultos de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, p.153-157, 1995.

SANTOS, J.P.D.; Redaelli, L.R.; SANT'ANA, J.; HICKEL, E.R. Susceptibility of apple tree genotypes to *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in different infestation conditions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.1, p.90-95, 2015.

SCOZ, P.L.; BOTTON, M.; GARCIA, M.S. Controle químico de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) em laboratório. **Ciência Rural**, v.34, p.1689-1690, 2004.

SHEFFIELD, C.S. *Osmia Lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae) in the Annapolis Valley, Nova Scotia, Canada. **Journal of Pollination Ecology**, v.12, n.13, p.120-128, 2014.

SMITH, R.K.; WILCOX, M.M. Chemical residues in bees, honey and beeswax. **American Bee Journal**, v.130, n.3, p.188-192, 1990.

STARK, J.D.; VARGAS, R.; MILLER, N. Toxicity of spinosad in protein bait to three economically important tephritid fruit fly species (Diptera: Tephritidae) and their parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). **Journal Economic Entomology**, v.97, p.911-915, 2004.

TEIXEIRA, R.; CASSANDRO, V.T.A.; BOFF, M.I.C.; RIBEIRO, L.G. Controle de pragas e doenças, maturação e qualidade de maçãs 'imperial gala' submetidas ao ensacamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.394-401, 2011.

TEIXEIRA, R.; BOFF, M.I.C.; RIBEIRO, L.G.; BOFF, P. Bordadura de pomar e flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em sistema orgânico de produção de maçã. **Scientia Agraria**, v.16, n.1, 2015.

US EPA - Ecological effects test guidelines OPPTS 850.3020. **Honey bee acute contact toxicity test**. EPA, 712-C-96-147. Washington, 1996a.

US EPA - Ecological effects test guidelines OPPTS 850.3040. **Field testing for pollinators**. EPA, 712-C-96-150. Washington, 1996b.

VARGAS, R.I.; MILLER, N.W.; PROKOPY, R.J. Attraction and feeding responses of Mediterranean fruit fly and a natural enemy to protein baits laced with two novel toxins, phloxine B and spinosad. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.102, p.273-282, 2002.