

Suscetibilidade de operárias e larvas de abelhas sociais em relação à ricinina

Débora C. Rother¹, Tiago F. Souza², Osmar Malaspina², Odair C. Bueno², Maria de Fátima das G. F. da Silva³, Paulo C. Vieira³ & João B. Fernandes³

1. Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, Avenida 24 A, nº 1515, 13506-900 São Paulo, SP, Brasil. (dcrother@rc.unesp.br)
2. Centro de Estudos de Insetos Sociais, Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, Avenida 24 A, nº 1515, 13506-900 São Paulo, SP, Brasil. (tiagofs@rc.unesp.br; malaspina@rc.unesp.br; odaircb@rc.unesp.br)
3. Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Caixa Postal 676, 13565-905 São Carlos, SP, Brasil. (dmfs@power.ufscar.br; paulo@dq.ufscar.br; djbf@power.ufscar.br)

ABSTRACT. Susceptibility of workers and larvae of social bees in relation to ricinine. Many substances of vegetal origin can be toxic or present an insecticidal potential. With the aim of decreasing the environment pollution problem, a few studies are trying to substitute synthetic insecticides with botanical ones. *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) presents a great variety of substances, being the ricinine the main toxic component. Considering that bees are useful as pollinator agents of plants, this study evaluates toxicity potential of ricinine on workers and larvae of *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera, Apidae) and *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1907) (Hymenoptera, Meliponini). In order to determine ricinine toxicity, ingestion tests were carried out with isolated workers bees that received ricinine on its diet. Furthermore, for topical tests, solutions of ricinine in methanol were applied on pronotum of worker bees with an "Agla" brand micrometer syringe outfit. For larvae of bees, ingestion tests were used and mortality rates were calculated. According to the results, it was detected a significant toxic activity ($p < 0.0001$) of ricinine on the workers of the two bee species at concentrations of 0.1% in the ingestion tests and 0.2% in the topical tests. For all concentrations (0.25%, 0.5% and 1%), a high percentage of larvae bees was negatively affected by ricinine on the first days of life.

KEYWORDS. *Ricinus communis*, *Apis mellifera*, *Scaptotrigona postica*, topical test, ingestion test.

RESUMO. Muitas substâncias de origem vegetal podem ser tóxicas ou apresentar potencial inseticida. Com o objetivo de diminuir a problemática da poluição ambiental alguns estudos vêm tentando substituir os inseticidas artificiais pelos inseticidas botânicos. *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) apresenta uma grande variedade de substâncias sendo a ricinina o principal componente tóxico. Considerando que as abelhas são insetos benéficos por atuarem como agentes polinizadores das plantas, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito tóxico da ricinina para as operárias e larvas de *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera, Apidae) e *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1907) (Hymenoptera, Meliponini). Para isso, foram realizados testes de ingestão em operárias confinadas recebendo ricinina incorporada à dieta e testes de aplicação tópica com a substância solubilizada em metanol e aplicada no pronoto das abelhas com auxílio de uma microseringa. Para as larvas foram realizados testes de ingestão e calculada sua taxa de mortalidade. Os resultados mostram atividade tóxica significativa ($p < 0.0001$) da ricinina nas abelhas adultas das duas espécies para a concentração 0,1% nos testes de ingestão e 0,2% nos testes de aplicação tópica. Outrossim, uma elevada porcentagem de larvas foi afetada negativamente pela ricinina logo nos primeiros dias de vida para todas as concentrações testadas (0,25%, 0,5% e 1%).

PALAVRAS-CHAVE. *Ricinus communis*, *Apis mellifera*, *Scaptotrigona postica*, teste de aplicação tópica, teste de ingestão.

Apesar da grande importância dos insetos como polinizadores de muitas espécies vegetais, existem aqueles considerados fitófagos. Em resposta, algumas plantas são capazes de fornecer substâncias que podem provocar a morte dos insetos, havendo as que apenas os afugentam e outras que tem a particularidade de capturar e digerir-los. Assim, pesquisadores vêm se interessando pelos efeitos das substâncias derivadas das plantas no controle de insetos que são considerados pragas, podendo também afetar espécies de insetos benéficos, como os polinizadores (RAMOS *et al.*, 2003).

TRIGO & SANTOS (2000) estudaram a mortalidade de insetos em flores de *Spathodea campanulata* (Bignoniaceae), marcando os botões florais um dia antes da antese. Em seguida, contaram e identificaram os insetos mortos a cada 24 horas, até 5 dias após a antese. Em 445 flores examinadas foram encontrados 345 insetos mortos, na maioria abelhas da tribo Meliponini. Em bioensaios laboratoriais, a mucilagem pura coletada de botões florais e a mucilagem na concentração de 25% foram avaliadas

em abelhas *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) (Meliponini) recém-emergidas. Os resultados mostraram uma redução da longevidade das recém-nascidas de 52,9% para a concentração de 25% e de 95,2% para a mucilagem pura.

CARVALHO & MESSAGE (2004) realizaram um estudo utilizando o ácido tântico na alimentação de larvas de abelhas e verificaram que este causou sintomas semelhantes aos provocados pela doença denominada "cria ensacada brasileira", que se caracteriza por apresentar mudanças de coloração, interrompimento dos instares larvais e quando as larvas parecem estar dentro de sacos. O estudo foi realizado devido a grande quantidade de tanino observada em uma das variedades do barbatimão, o *Stryphnodendron polyphyllum* (Leguminosae).

Atualmente, são freqüentes os estudos de biopesticidas na tentativa de diminuir o impacto ecológico que os pesticidas químicos vêm causando no meio ambiente. MIRANDA *et al.* (2003) avaliaram a

susceptibilidade da amida pelitorina, isolado de *Piper tuberculatum* (Piperaceae), para as abelhas *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) através de testes de ingestão e de contato. As larvas mostraram-se mais suscetíveis à amida pelitorina em relação às operárias recém-emergidas.

SINGARAVELAN *et al.* (2006) em estudos dos efeitos dos componentes secundários do néctar das flores *Nicotiana* spp. (Solanaceae) sobre colônias de *A. mellifera*, observaram que a presença de nicotina extraídas dessas flores não afetou a sobrevivência das abelhas adultas e causou mortalidade somente nas larvas e em concentrações elevadas (50 ppm).

No Brasil, estudos realizados com duas espécies de barbatimão, *Dimorphandra mollis* (Leguminosae) e *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae) mostraram atividade tóxica do macerado de suas flores desidratadas quando adicionadas à dieta das abelhas (CINTRA *et al.*, 2003). A caracterização de aleloquímicos com propriedades antialimentares e repelentes utilizados pelas plantas como defesa vem se constituindo como mais um avanço em estudos desta natureza (PIZZAMIGLO, 1991). CINTRA *et al.* (2002), por exemplo, trabalharam com extratos metanólicos das flores e pedúnculos de *D. mollis* e isolaram o flavonóide astilbina, mostrando que essa substância era causa de mortalidade para as abelhas. Com metodologia idêntica, SOUZA *et al.* (2006) mostraram que os extratos metanólicos e diclorometano dos pedúnculos e inflorescências de *S. adstringens* tiveram um efeito tóxico para as operárias de *A. mellifera* e abelhas nativas (*S. postica*).

Dentre os grupos de insetos, em Apoidea estão os mais importantes polinizadores de plantas nativas e cultivadas (KEVAN & BAKER, 1983). De modo geral, as abelhas são totalmente dependentes das flores para obtenção de pólen, néctar, óleos, fragrâncias e outros recursos, utilizados tanto pelos adultos quanto por suas larvas. Estes recursos são obtidos por diferentes espécies de abelhas que forrageiam em horários diferentes e/ou concentram-se em certas espécies de plantas. Além disso, algumas espécies de abelhas também utilizam as flores como um local de abrigo, repouso ou acasalamento (PEDRO & CAMARGO, 1991).

No Brasil, há a perspectiva de se ampliar as plantações de mamona (*Ricinus communis*, Euphorbiaceae) (CONAB, 2006) como forma alternativa de produção de combustível e de se utilizar a ricinina como inseticida no controle de insetos pragas, sendo de fundamental importância a realização de estudos sobre o efeito da ricinina, em espécies não alvo. Diante desse contexto, este estudo visa verificar os possíveis efeitos da ricinina, substância extraída das folhas de mamona, sobre operárias e larvas de duas espécies de abelhas sociais, importantes polinizadoras.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do extrato foliar bruto. Folhas de *R. communis* coletadas no Jardim Experimental do Campus da UNESP - Rio Claro foram secas em estufa por 48 h a 40°C, trituradas em moinho tipo Wiley e transportadas para o laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar. A matéria seca, moída e

com massa de 3,5 kg foi submetida à percolação em recipiente de cinco litros por sete dias com diclorometano à temperatura ambiente, em repouso. Após filtração, o concentrado obtido em evaporador rotativo foi de 380g de extrato bruto.

Fracionamento químico de extrato foliar bruto e identificação do princípio ativo. O isolamento de ricinina a partir do extrato diclorometânico das folhas foi realizado através de cromatografia contracorrente de alta velocidade (HSCCC) a partir de 1,5 g do extrato bruto conforme LEITE *et al.* (2005). A ricinina foi obtida na forma pura nas frações 35-49 (209 mg). Os solventes empregados no fracionamento foram comerciais destilados no Departamento de Química – UFSCar. A identificação do princípio ativo foi realizada através de análises espectroscópicas por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 (RMN ¹H e ¹³C), infravermelho e espectrometria de massas (EM) (BIGI *et al.*, 2004).

Abelhas. Foram utilizadas abelhas adultas e larvas de *A. mellifera* e *S. postica*, provenientes do apiário do Instituto de Biociências da UNESP - Rio Claro. Abelhas adultas recém-emergidas de *A. mellifera* foram coletadas nos favos, utilizando sua coloração e tamanho para a identificação. Já para *S. postica*, os favos de cria coletados nos ninhos foram colocados em bandejas plásticas de 55 cm x 45 cm x 10 cm (com paredes revestidas de fluon - resina de fluoroetireno - para evitar fugas) com alimento (cândi) e água, para que as operárias emergissem em um intervalo de 24 horas.

Testes de ingestão. Os testes com larvas foram realizados seguindo VANDENBERG & SHIMANUKI (1987). O alimento foi depositado no fundo dos alvéolos durante cinco dias, recebendo em cada um deles 4, 15, 25, 50, 75 µl de alimento, respectivamente. A dieta foi preparada com 10g de geléia real, 7,4 ml de água destilada, 1,4 g de D-glicose, 1,4 g de D-frutose e 0,2 g extrato de levedo para os experimentos com *A. mellifera*, onde foi incorporada a ricinina nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1%. Para *S. postica* a dieta foi preparada a partir de 10 g de pólen, 5 g de mel e 5,4 ml de água destilada, nas mesmas concentrações propostas anteriormente. As larvas de *S. postica* foram alimentadas apenas no primeiro dia com uma dieta de 36 µl. Os alvéolos contendo as larvas foram colocados em placas de Petri e observados diariamente sob lupa. As alterações de coloração e alterações no desenvolvimento foram registrados assim como o número de indivíduos mortos, no período de 24 e 48 horas.

Para os testes com operárias, a ricinina foi incorporada à dieta e oferecida às abelhas nas concentrações 0,02%, 0,05% e 0,1%. Para *A. mellifera* utilizou-se o cândi como dieta artificial (açúcar confeiteiro e mel, na proporção de 5:1) e para *S. postica* foi ministrado pólen previamente retirado dos reservatórios do ninho e conservado em geladeira. O alimento preparado foi oferecido em tampas plásticas de 2,8 cm de diâmetro, recoberta por uma tela de arame a fim de evitar contaminação por contato. Os grupos experimentais e controle receberam os mesmos suprimentos de água através de algodão embebido em água. As abelhas foram acondicionadas em três caixas de madeira (20 abelhas por caixa) de 11 cm de comprimento x 11 cm de largura x 7 cm de altura, forradas com papel-filtro.

Os testes foram conduzidos em estufa B.O.D, com temperatura a $34 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade acima de 80% para as larvas de *A. mellifera* e $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade acima de 70% para *S. postica*. Para as operárias de *A. mellifera* a temperatura foi de $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e para *S. postica*, $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, ambas em umidade relativa de 70%.

Testes de aplicação tópica em operárias. A ricinina foi adicionada a 1 ml do solvente metanol, nas soluções de concentração 5, 10 e 20 mg de ricinina por ml de metanol. Para cada abelha adicionou-se 1 μl da solução correspondente (0,005; 0,01 ou 0,02 mg/ μl) na região do pronoto com o auxílio de uma microseringa adaptada a um micrômetro e um capilar de vidro. Após a aplicação, as abelhas permaneceram por quinze minutos em uma bandeja plástica para a evaporação do solvente e foram retiradas e distribuídas nas caixas de madeira. Foi utilizado um controle sem solvente (SS) e outro com solvente (S). A cada 24 horas a mortalidade foi observada.

Análise estatística. Para os experimentos de ingestão e de aplicação tópica foram calculadas as taxas de sobrevivência a cada 24 horas, durante 25 dias, no Software GraphPad Prism 2.01. Posteriormente, foi aplicado o teste não-paramétrico Log Rank Test (MOTULSKY, 1995), para comparar as curvas de sobrevivência. Para os testes de ingestão foi calculada a porcentagem de larvas sobreviventes em 24 e 48 horas.

RESULTADOS

Os resultados indicam efeito tóxico nas concentrações 0,05% e 0,1% para os testes de ingestão realizados com operárias de *A. mellifera*. Para a concentração 0,02% os resultados indicam ausência de toxicidade dessa substância (Tab. I). Em *S. postica* foi observado efeito tóxico da ricinina quando presente na dieta na concentração 0,1% (Tab. II). Para os testes de aplicação tópica, os resultados foram significativos apenas na concentração de 0,02% (20 mg. ml^{-1}) em ambas as espécies de abelhas (Tabs. III, IV).

Larvas de *A. mellifera* e de *S. postica* apresentaram suscetibilidade à ricinina nas três concentrações

adicionadas à dieta de operária (0,25; 0,5 e 1,0%) 24 horas após o início dos bioensaios (Tabs. V, VI).

DISCUSSÃO

Os experimentos mostraram que a ricinina reduziu a taxa de sobrevivência das abelhas tratadas. Em trabalho semelhante, BIGI *et al.* (2004) realizaram tratamentos de ingestão de ricinina em formigas cortadeiras *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758), nos quais verificaram sintomas de intoxicação após 24 horas da ingestão. Ao contrário do obtido para abelhas, os resultados para este estudo com formigas indicaram efeito significativo na mortalidade para concentrações menores (0,02% ou 0,2 mg. ml^{-1} e 0,04% ou 0,4 mg. ml^{-1}), principalmente a partir do 4º dia de experimento. CINTRA *et al.* (2003) mostraram o efeito tóxico dos extratos metanólicos de *D. mollis* (falso-barbatimão) para operárias de *A. mellifera*. Posteriormente estes foram fracionados e foi isolada a substância astilbina, com uma elevada mortalidade de *A. mellifera* (CINTRA *et al.*, 2005). Em acréscimo, KITAMURA *et al.* (1999) verificaram que a menor concentração tóxica da ricinina para operárias de formigas *A. sexdens* foi 0,005% (0,05 mg. ml^{-1}). Aquele resultado quando comparado com os obtidos para as duas espécies de abelhas (*A. mellifera*, 0,05% e 0,1%; *S. postica*, 0,1%) denota uma toxicidade maior da ricinina para as formigas, visto que esta substância reduziu a sobrevivência daqueles insetos mesmo quando administrada em menor concentração.

As abelhas das duas espécies tratadas com ricinina em testes de ingestão mostraram sintomas de intoxicação como lentidão dos movimentos, falta de orientação, tremor das pernas, paralisia e morte. Esses sintomas foram variáveis entre as abelhas e dependentes da concentração de ricinina na dieta. Sintomas semelhantes de intoxicação foram observados por BUSOLI *et al.* (1992) em formigueiro de campo de *Atta capiguara* (Gonçalves, 1944) tratados com diflubenzuron e Mirex® com 0,45% de dodecacloro. SOUZA *et al.* (2006) em estudo com abelhas adultas de *A. mellifera* e *S. postica* tratadas com extratos foliares de *Stryphnodendron adstringens* também verificaram comportamento similar.

Tabela I. Porcentagem de mortalidade em operárias de abelhas *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) em testes de ingestão com ricinina (S_{50} , mediana de sobrevivência; letras diferentes depois dos valores de S_{50} mostram uma diferença significativa, teste log-rank ($p < 0,05$)).

Concentração de ricinina (%)	Dias										
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	S_{50}
Controle	0	0	0	0	13,3	13,3	30	46,6	70	91,6	18a
0,02	0	0	20	25	25	25	43,3	50	80		17a
0,05	0	20	20	30	30	30	43,3	73,3	95		15b
0,1	0	25	28,3	31,6	31,6	31,6	43,3	63,3	95		15b

Tabela II. Porcentagem de mortalidade em operárias de abelhas *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) em testes de ingestão com ricinina (S_{50} , mediana de sobrevivência; letras diferentes depois dos valores de S_{50} mostram uma diferença significativa, teste log-rank ($p < 0,05$)).

Concentração de ricinina (%)	Dias										S_{50}
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	S_{50}
Controle	0	0	1,6	1,6	5	16,6	35	40	80	90	19a
0,02	0	0	0	0	5	10	16,6	35	86,6	95	17a
0,05	0	1,6	1,6	3,2	6,6	10	30	55	71,3		17a
0,1	0	0	3,2	6,6	15	25	66,6	85			14b

Tabela III. Porcentagem de mortalidade em operárias de abelhas *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) em testes de aplicação tópica com ricinina (S_{50} , mediana de sobrevivência; letras diferentes depois dos valores de S_{50} mostram diferença significativa, teste log-rank ($p < 0,05$); controle (S), presença do solvente metanol; controle (SS), ausência do solvente metanol).

Concentração de ricinina (%)	Dias										
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	S_{50}
Controle (SS)	0	0	0	0	1,6	10	66,6	91,6	95	95	13a
Controle (S)	0	0	0	0	1,6	13,3	56,6	86,6	96,6	98	13a
0,005	0	3,2	3,2	3,2	6,6	13,3	70	93,3	98		13a
0,01	0	0	0	3,2	6,6	15	70	95	98		13a
0,02	0	0	0	1,6	10	40	93,3				11b

Tabela IV. Porcentagem de mortalidade em operárias de abelhas *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) em testes de aplicação tópica com ricinina (S_{50} , mediana de sobrevivência; letras diferentes depois dos valores de S_{50} mostram uma diferença significativa, teste log-rank ($p < 0,05$); controle (S), presença do solvente metanol; controle (SS), ausência do solvente metanol).

Concentração de ricinina (%)	Dias										S_{50}
	1	2	3	6	8	10	14	17	21	25	S_{50}
Controle (SS)	0	0	0	0	5	10	18,3	40	70	70	19a
Controle (S)	0	0	0	0	13,3	43,2	53,6	60	66	86,6	13a
0,005	0	0	0	1,6	3,2	23,6	50	51,6	63,3	70	16a
0,01	0	1,6	1,6	1,6	1,6	10	21,6	30	45	60	22a
0,02	0	0	1,6	1,6	1,6	5	25	73,3	95		15b

Tabela V. Porcentagem de mortalidade em larvas de *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) de 24 h e 48 h durante o seu desenvolvimento, alimentadas com dieta artificial e ricinina em diferentes concentrações.

Ricinina (%)	Mortalidade (%)		Mortalidade (%)
	Tempo	24 h	48 h
Controle	20		0
1	100		
0,5	100		
0,25	88		100

Os resultados obtidos nos experimentos com larvas de *A. mellifera* e *S. postica* de 24 e 48 horas de idade, utilizando-se três concentrações diferentes de ricinina (0,25; 0,5 e 1,0%) adicionada à dieta de operária mostraram efeitos tóxicos já em 24 horas para estas espécies. De maneira semelhante, CARVALHO & MESSAGE (2004) estudaram a toxicidade do pólen de *Stryphnodendron polyphyllum* para larvas de *A. mellifera*. Além de verificar o efeito tóxico, os resultados mostraram que o pólen desta planta provoca, nas larvas, sintomas semelhantes à “cria ensacada brasileira”, com mudanças na coloração e interrompendo os instares larvais no período de pupa. A ricinina apresentou toxicidade semelhante a *Stryphnodendron polyphyllum*, inibindo o crescimento e evolução do primeiro instar larval e alterando a coloração do branco para amarelado.

Comparando-se os resultados do presente estudo com resultados da literatura, é possível sugerir que a ricinina é uma substância de origem vegetal tóxica para insetos. BIGI *et al.* (2004) sugeriram que a ricinina deve ser aplicada diretamente nos ninhos das formigas como iscas granuladas a fim de se evitar possível contaminação de outros insetos por contato ou por ingestão. Assim, constatou-se a atividade tóxica de ricinina para duas espécies de abelha. Por conseguinte, para se conservar a

Tabela VI. Porcentagem de mortalidade em larvas de *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807) de 24 h e 48 h durante o seu desenvolvimento, alimentadas com dieta artificial e ricinina em diferentes concentrações.

Ricinina (%)	Mortalidade (%)		Mortalidade (%)
	Tempo	24 h	48 h
Controle		33	66
1		41	100
0,5		33	100
0,25		33	100

interação entre abelhas e plantas é necessário que se evite o contato das mesmas com estas iscas ou com outras formas de aplicação de ricinina para controle de insetos pragas.

Agradecimentos. Agradecimentos especiais à Professora Dra. Maria José Hebling da Universidade Estadual Paulista (UNESP/RC) pelo suporte fornecido, ao Antonio Sérgio Pascon responsável pelo Laboratório de Apicultura da UNESP/RC e aos colegas do Centro de Estudos de Insetos Sociais (UNESP/RC) pela ajuda nos trabalhos laboratoriais. Ao Pibic - CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIGI, M. F. M. A.; TORKOMIAN, V. L. V.; DE GROOTE, S. T. C. S.; HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. & SILVA, M. F. G. F. 2004. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Management Science* **60**:933-938.
- BUSOLI, A. C.; FERNANDES, O. A.; SHIWA, S. & SOUZA, A. J. 1992. Atratividade e controle da saúva parda *Atta capiguara* (Gonçalves, 1944) (Hymenoptera, Formicidae) através de iscas com diflubenzuron. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **21**:29-39.
- CARVALHO, A. C. P. & MESSAGE, D. 2004. A scientific note on the toxic pollen of *Stryphnodendron polyphyllum* (Fabaceae,

- Mimosoideae) which causes sacbrood-like symptoms. **Apidologie** **35**:89-90.
- CINTRA, P.; MALASPINA, O. & BUENO, O. C. 2003. Toxicity of barbatimão to *Apis mellifera* and *Scaptotrigona postica*, under laboratory conditions. **Journal of Apicultural Research** **42**:9-12.
- CINTRA, P.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; PETACCI, F. & FERNANDES, J. B. 2002. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of Brazilian Chemical Society** **13**:115-118.
- CINTRA, P.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. & SILVA, M. F. G. F. 2005. Oral toxicity of chemical substances found in *Dimorphandra mollis* (Caesalpiniaceae) against honeybees (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology** **45**:141-149.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, Brasil. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 26.10.2006.
- KEVAN, P. G. & BAKER, H. G. 1983. Insects as flower visitors and pollinators. **Annual Review of Entomology** **28**:407-453.
- KITAMURA, A. E.; HEBLING, M. J. A.; TAKAHASHI-DEL-BIANCO, M.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; BACCI JUNIOR, M.; FERNANDES, J. B. & VIEIRA, P. C. 1999. Determinação da toxicidade da ricinina para operárias de *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae), em Laboratório. **Naturalia** **24**:307-309.
- LEITE, A. C.; CABRAL, E. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. & DA SILVA, M. F. G. F. 2005. Isolamento do alcalóide ricinina das folhas de *Ricinus communis* através de cromatografias em contracorrente. **Química Nova** **28**:983-985.
- MIRANDA, J. E.; NAVICKIENE, H. M. D.; NOGUEIRA-COUTO, R. H.; BORTOLI, S. A.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S. & FURLAN, M. 2003. Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Apidologie** **34**:409-415.
- MOTULSKY, M. D. H. 1995. **Intuitive Biostatistics**. New York, Oxford University. 386p.
- PEDRO, S. R. & CAMARGO, J. M. F. 1991. Interactions on floral resource between the Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.) and native bee community (Hymenoptera: Apoidea) in a natural "cerrado" ecosystem in southeast Brazil. **Apidologie** **22**:397-415.
- PIZZAMIGLIO, M. A. 1991. Ecologia das interações inseto-planta. In: PANIZZI, A. R. & PARRA, J. R. P. eds. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Manole. p.101-129.
- RAMOS, L. S.; MARINHO, C. G. S.; ZANETTI, R.; DELABIE, J. H. C. & SCHLINDWEIN, M. N. 2003. Impacto de iscas formicidas granuladas sobre a mirmecofauna não-alvo em eucaliptais segundo duas formas de aplicação. **Neotropical Entomology** **32**:231-237.
- SINGARAVELAN, N.; INBAR, M.; NEMAN, G.; DISTL, M.; WINK, M. & IZHAZI, I. 2006. The effects of nectar - nicotine on colony fitness of caged honeybees. **Journal of Chemical Ecology** **32**:49-58.
- SOUZA, T. F.; CINTRA, P.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; FERNANDES, J. B. & ALMEIDA, S. S. M. S. 2006. Toxic effects of methanolic and dichloromethane extracts of flowers and peduncles of *Stryphnodendron adstringens* (Leguminosae - Mimosoideae) to *Apis mellifera* and *Scaptotrigona postica* workers. **Journal of Apicultural Research** **45**:112-116.
- TRIGO, J. R. & SANTOS, W. F. 2000. Insect mortality in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae) flowers. **Revista Brasileira de Biologia** **60**:537-538.
- VANDEMBERG, J. D. & SHIMANUKI, H. 1987. Technique for rearing worker honeybees in the laboratory. **Journal of Apicultural Research** **26**:90-97.