

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ELIZABETE ARTUS BERTE

**ABELHAS CAMPEIRAS DE *Apis mellifera* L. AFRICANIZADA (HYMENOPTERA:
APIDAE) SÃO SUSCETÍVEIS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE PITANGA (*Eugenia
uniflora*) E DE PATCHOULI (*Pogostemon cablin*)?**

DOIS VIZINHOS

2023

ELIZABETE ARTUS BERTE

ABELHAS CAMPEIRAS DE *Apis mellifera* L. AFRICANIZADA (HYMENOPTERA: APIDAE) SÃO SUSCETÍVEIS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE PITANGA (*Eugenia uniflora*) E DE PATCHOULI (*Pogostemon cablin*)?

Are Africanized Bees *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) Susceptible to Pitangueira (*Eugenia uniflora*) And Patchouli (*Pogostemon cablin*) Essential Oils

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Dois Vizinhos.

Orientadora: Prof^a Dra. Michele Potrich.

Coorientadora: Dra. Natalia Ramos Mertz.

DOIS VIZINHOS

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos



ELIZABETE ARTUS BERTE

ABELHAS CAMPEIRAS DE *APIS MELLIFERA* L. AFRICANIZADA (HYMENOPTERA: APIDAE) SÃO SUSCETÍVEIS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE PITANGA (*EUGENIA UNIFLORA*) E DE PATCHOULI (*POGOSTEMON CABLIN*)?

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Agroecossistemas.

Data de aprovação: 26 de Agosto de 2022

Dra. Michele Potrich, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dejane Santos Alves, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Sílvia Helena Sofia, Doutorado - Universidade Estadual de Londrina (Uel)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/08/2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder sabedoria e saúde para alcançar meus objetivos. Aos meus pais Neida Artus e Neris Francisco Berte por todo amor, apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida. Por acreditarem em mim, e não medirem esforços para a concretização dos meus sonhos. A minha irmã Elisandra Artus Berte que além de irmã é minha melhor amiga, meu alicerce e inspiração, é a pessoa que está ao meu lado em todos os momentos, acreditando e apoiando. Amo vocês!

Especialmente à minha orientadora, Professora Doutora Michele Potrich, por acreditar na minha capacidade para executar esse trabalho, sem você a realização deste não seria possível. Sempre foi um grande exemplo para mim, agradeço a orientação exemplar pautada por um elevado e rigoroso nível científico. Obrigada por não medir esforços ao passar seu conhecimento, pode ter certeza de que suas correções são únicas e aprendi muito tentando decifrar suas letras, apontamentos e sublinhados no papel. Gratidão!

A minha co-orientadora Natalia Ramos Mertz, pilar essencial para que este trabalho fosse executado. Quando solicitei sua ajuda em todas as etapas da pesquisa, sempre fui atendida com paciência e tranquilidade. A pessoa que me fez pensar e observar a pesquisa de um ângulo diferente, a que trouxe apontamentos e melhorias. “Toda pesquisa deveria ter uma Nati”.

À Profa Dra Fabiana Martins Costa-Maia pelos ensinamentos e pela disponibilização do apiário. Aos colegas que trabalham na UNEPE apicultura, por todo empenho e dedicação Fernanda Raulino Domanski, Diéli Patricia De Souza, Eduardo Augusto, Vitoria Alves, Rúbia Andrade, Leticia Marchiori, Thais Pauli, juntamente com os amigos do Laboratório de Controle Biológico Andressa Faleira Andrade, Bruna Escher, Brandali Pereira, Leticia Ribeiro, Juliana Hofma.

Ao professor Dr Edgar de Souza Vismara agradeço as contribuições e apoio no desenvolvimento do trabalho.

À Cristiane Palochi amiga que fiz durante a pós-graduação e que levarei para a vida, graças aos seus ensinamentos que assim pude finalizar esse trabalho. Obrigada por todo apoio ao longo desta caminhada.

À amiga Silvane Zancanaro pelo companheirismo diário no laboratório e na vida. Você tornou os dias de trabalho muito mais leves e divertidos. Obrigada por me ajudar em todos os momentos que precisei.

Ao meu namorado Erivelto Tolfo pela paciência, companheirismo, obrigada por não soltar minha mão e caminhar ao meu lado nesse desafio.

Aos meus velhos amigos Fabiana Didomenico, Roberta Folhiato, Marina Vasconcelos, Edineia Kaiper aqueles que conheci na época da graduação e que continuam do meu lado. Mesmo com a distância vocês sempre estiveram presentes e me ajudaram durante o mestrado, com um gesto de carinho ou uma palavra amiga. É muito bom saber que tenho vocês sempre comigo, meus bons e velhos amigos.

A todos os meus amigos e familiares que, direta ou indiretamente, auxiliaram e não foram citados acima.

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos pela disponibilização dos laboratórios e de toda a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro através da bolsa de mestrado, sob código de financiamento - 313244/2020-0, sem esse subsídio a obtenção deste título não seria possível.

RESUMO

A abelha africanizada *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) é um inseto social com notável importância na agricultura e na economia, principalmente devido ao processo de polinização, importante serviço ecossistêmico. Além da polinização que beneficia a produção de diferentes culturas, as abelhas produzem mel, geleia real, cera, própolis, pólen e apitoxina. No entanto, nos últimos anos, a mortalidade destes insetos tem sido evidente e relacionada, principalmente, ao uso de agrotóxicos. Uma das alternativas para reduzir os problemas causados por estes produtos é o uso de óleos essenciais, ou inseticidas botânicos. No entanto, os efeitos dos óleos essenciais sobre *A. mellifera* ainda são pouco compreendidos. Assim, objetivou-se avaliar a suscetibilidade de abelhas campeiras de idade conhecida (marcadas) e idade desconhecida (não-marcadas) de *Apis mellifera* africanizada (Hymenoptera: Apidae) aos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* Lineu. (pitangueira) e de *Pogostemon cablin* Benth. (patchouli), ambos utilizados no controle de pragas. Para isto, em laboratório, quatro bioensaios foram preparados com os óleos essenciais na concentração de 0,75%, em laboratório. Os bioensaios foram: 1) Contato de *A. mellifera* (idade conhecida e idade desconhecida) em superfície vítrea tratada com óleos essenciais; 2) Ação dos óleos essenciais pulverizados diretamente sobre abelhas de *A. mellifera* (com idade conhecida e idade desconhecida), 3) Ação dos óleos essenciais em campeiras *A. mellifera* com idade conhecida (IC) e idade desconhecida (ID) alimentadas com dieta contendo os tratamentos e; 4) Análise do comportamento de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) de campeiras *A. mellifera* IC e ID. Os óleos essenciais provocaram redução na probabilidade de sobrevivência de abelhas *A. mellifera*, destacando sua toxicidade no tempo de 12 horas. No bioensaio 1 os óleos essenciais reduziram a probabilidade de sobrevivência de *A. mellifera*, diferindo das abelhas do grupo controle. O óleo essencial de *E. uniflora* provocou redução ainda maior na sobrevivência de abelhas com id. No bioensaio 2 os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* também reduziram a sobrevivência das abelhas *A. mellifera* diferindo do grupo controle. No bioensaio 3 o óleo essencial de *E. uniflora* reduziu a probabilidade de sobrevivência de *A. mellifera*, com destaque para redução na sobrevivência de abelhas com idade desconhecida. O óleo essencial de *P. cablin* também reduziu a probabilidade de sobrevivência destas abelhas. Quando analisado o impacto dos óleos essenciais sobre abelhas com idade conhecida e desconhecida, no bioensaio 3 verificou-se que a ação dos óleos foi distinta entre as diferentes idades, entretanto, diferindo negativamente da sobrevivência do grupo controle. No bioensaio 4 os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin*, afetou o comportamento de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) destas abelhas. As abelhas *A. mellifera* africanizada são suscetíveis aos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* independente da idade e do método a que foram expostas aos respectivos óleos essenciais.

Palavras-chave: Abelha africanizada; Idade; Inseticida botânico; Seletividade; Toxicidade.

ABSTRACT

The Africanized bee *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) is a social insect with highlighted importance in agriculture and economy, mainly due to the pollination process, an important ecosystem service. In addition to pollination that benefits the production of different crops, bees produce honey, royal jelly, wax, propolis, pollen and apitoxin. However, in recent years, the mortality of these insects has been evident and mainly related to the use of pesticides. One of the alternatives to reduce the problems caused by these products is the use of essential oils, or botanical insecticides. However, the effects of essential oils on *A. mellifera* are still poorly understood. Thus, the objective was to evaluate the susceptibility of field bees of known age (marked) and unknown age (unmarked) of Africanized *A. mellifera* to the essential oils of pitangueira (*Eugenia uniflora*) and patchouli (*Pogostemon cablin*), both used in pest control. For this, four bioassays were prepared in the laboratory with essential oils at a concentration of 0.75%. The bioassays were: 1) Contact of *A. mellifera* (age known and age unknown) on a vitreous surface treated with essential oils; 2) Action of essential oils sprayed directly on *A. mellifera* (with known age and unknown age), 3) Action of essential oils on *A. mellifera* (with known age and unknown age) fed a diet containing the treatments and; 4) Analysis of flight behavior (vertical displacement) and flight resumption (free fall) of *A. mellifera* (with known age and unknown age). Essential oils caused a reduction in the probability of survival of *A. mellifera* bees, highlighting their toxicity within 12 hours. In bioassay 1) the essential oils reduced the survival probability of *A. mellifera*, differing from the control group bees. The *E. uniflora* essential oil caused a further reduction in the survival of bees of unknown age. In bioassay 2) the *E. uniflora* and, *P. cablin* essential oils also reduced the survival of *A. mellifera* bees, differing from the control group. In bioassay 3) The *E. uniflora* essential oil reduced the probability of survival of *A. mellifera*, with emphasis on the reduction in survival of bees of unknown age. *Pogostemon cablin* essential oil also reduced the survival probability of these bees. When analyzing the impact of essential oils on bees with known and unknown age, in the bioassay (3), it was found that the action of the oils was different between the different ages; however, differing from the survival of the control group. The essential oils of *E. uniflora* and *P. cablin* in bioassay 4, affected the flight behavior (vertical displacement) and flight resumption (free fall) of these bees. Africanized *A. mellifera* bees are susceptible to *E. uniflora* and *P. cablin* essential oils regardless of age and method they were exposed to the respective essential oils.

Keywords: Africanized bee; Age; Botanical insecticide; Selectivity; toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Fases do ciclo de desenvolvimento das abelhas *Apis mellifera* africanizada..... 17**
- Fotografia 3A - Apiário da Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE - Apicultura) - UTFPR-DV. B - Quadros de abelhas *Apis mellifera* africanizada sendo colocados em colmeias distintas. C - Observação da presença de ovos nos quadros colocados na colmeia. D - Quadros removidos, embrulhados em sacos de papel Kraft (60 × 70 cm com gramatura de 50 mm), selados, perfurados e transportados para o Laboratório de Controle Biológico, até a emergência..... 34**
- Fotografia 4A - Marcação das abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas. B - Abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas com idade conhecida (marcadas). C - Abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas com idade conhecida (marcadas) colocadas em gaiolas entomológicas para serem devolvidas para o apiário. D - Abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas com idade conhecida (marcadas) sendo devolvidas para a colônia de origem.....35**
- Fotografia 5A e B - Abelhas *Apis mellifera* com idade conhecida (marcadas) coletadas na colmeia, 21 dias após a marcação em laboratório36**
- Fotografia 6A - Abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada com idade desconhecida (não-marcadas) contendo pólen na corbícula. B - Coleta das abelhas campeiras idade conhecida (marcadas) e idade desconhecida (não-marcadas) realizada no apiário da Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE- Apicultura), localizado na fazenda experimental da UTFPR-D.....37**
- Fotografia 7 - Placas de Petri pulverizadas com a sobreção dos tratamentos (*Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*) dispostas em câmara de fluxo unidirecional laminar (VECO) para evaporação completa da água.....39**
- Fotografia 8 - Recipiente plástico (1,0 × 2,5 cm - altura × diâmetro), com capacidade para 2 mL contendo dieta para *Apis mellifera*, cobertos com tela anti-afídica.....40**
- Fotografia 9A - Pulverização dos tratamentos com *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin* sobre abelhas campeiras *Apis mellifera* com idade conhecida (marcadas) e idade desconhecida (não-marcadas). B - A dieta nos recipientes plásticos (2,5 cm de Ø × 1,0 cm de altura), com capacidade para 2 ml, cobertos com tela anti-afídica.....41**
- Fotografia 10A - Gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de Ø) cobertas com tecido voile, contendo 10 abelhas campeiras e recipiente com a dieta. B - As gaiolas de PVC sendo inseridas em câmara climatizada do tipo B.O.D. (30 ± 2°C, U.R. de 70 ± 10%) C - Gaiolas de PVC contendo as abelhas marcadas e não-marcadas em B.O.D (30 ± 2°C, U.R. de 70 ± 10%). D - Contagem de abelhas**

mortas, após a aplicação dos tratamentos *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*.....42

Fotografia 11A - Abelhas campeiras com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas) submetidas a análises da capacidade de voo e de retomada ao voo. B - Abelha *Apis mellifera* foi liberada do topo da torre e conseguiu retomar o voo em direção a fonte luminosa.....44

Figura 2 - Ilustração da torre de voo e classificação dos estratos de acordo com o comportamento das abelhas nos testes de queda e voo.....45

Gráfico 1 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* com IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após contato em superfície vítrea com o tratamento de *Eugenia uniflora*.....47

Gráfico 2 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* com IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após contato em superfície vítrea com o tratamento de *Pogostemon cablin*.....48

Gráfico 3A - Comparativo da probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* A - Com IC e B - ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após contato em superfície vítrea com os tratamentos de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*.....49

Gráfico 4 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após pulverização com o tratamento de *Eugenia uniflora*.....50

Gráfico 5 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após pulverização com o tratamento de *Pogostemon cablin*.....51

Gráfico 6A - Comparativo da probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após pulverização com os tratamentos de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*.....52

Gráfico 7 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após ingestão com o tratamento de *Eugenia uniflora*.....53

Gráfico 8 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após ingestão com o tratamento

de *Pogostemon*
cablin.....54

Gráfico 9A - Comparativo da probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após ingestão com os tratamentos de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*.....60

Gráfico 10 - Efeito do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre o deslocamento vertical de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID.....55

Gráfico 11 - Efeito do óleo essencial de *Pogostemon cablin* sobre o deslocamento vertical de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID.....57

Gráfico 12 - Efeito do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre a retomada de voo de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID.....58

Gráfico 13 - Efeito do óleo essencial de *Pogostemon cablin* sobre a retomada de voo de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID.....59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ciclo de desenvolvimento (dias) de rainha, operária e zangão de <i>Apis mellifera</i> africanizada.....	17
Tabela 2 - Funções realizadas pelas operárias de <i>Apis mellifera</i> africanizada de acordo com a idade.....	20
Tabela 3 - Nome científico da planta, família, nome popular, partes das plantas utilizadas para obtenção dos óleos essenciais e literatura sobre o potencial inseticida.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AChE	Enzima acetilcolinesterase
B.O.D.	Câmara climatizada
CCD	<i>Colony collapse Disorders</i>
DCC	Desordem do Colapso das Colônias
DV	Dois vizinhos
DWV	<i>Deformed wing virus</i>
EUA	Estados Unidos da América
GLY	Glifosato
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
I. CONH	Idade conhecida
I. DESC	Idade desconhecida
LABCON	Laboratório de Controle Biológico
OECD	Organização para a Cooperação Desenvolvimento Econômico
POSCA	Marca de caneta
PVC	Policloreto de vinilo
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UNEPE	Unidade de Ensino e Pesquisa Apicultura
VECO	Câmara de fluxo unidirecional laminar
Vmax	Velocidade máxima

LISTA DE SÍMBOLOS

CO ₂	Dióxido de carbono
C ₅ H ₈	Isoprenos
Ca	Cálcio
cm	Centímetro
Kgf	Quilograma-força
LD ₅₀	Dose letal mediana
mg	Miligra Miligrama
mL	Mililitro
O ₂	Oxigênio
Ø	Diâmetro
pH	Nível de acidez e basicidade
TE-058	Bomba Tecnal®
µL	Microlito
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
T	Temperatura
V	Volume
P	Pressão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivos específicos.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	Biologia e caracterização de <i>Apis mellifera</i> africanizada.....	16
3.2	Organização social de <i>Apis mellifera</i> africanizada	19
3.3	<i>Apis mellifera</i> africanizada e apicultura brasileira	21
3.3.1	Importância de <i>Apis mellifera</i> nos agroecossistemas	22
3.4	Desordem do Colapso das Colônias (DCC) e Mortalidade das Abelhas	24
3.5	Óleos essenciais para o controle de insetos	26
3.5.1	Óleo essencial de Patchouli (<i>Pogostemon cablin</i>).....	28
3.6	Influência da idade na suscetibilidade de abelhas campeiras <i>Apis mellifera</i> africanizada.....	31
4	METODOLOGIA	33
4.1	Obtenção das abelhas campeiras <i>Apis mellifera</i> africanizada com idade conhecida (marcadas)	33
4.2	Obtenção das abelhas campeiras <i>Apis mellifera</i> africanizada com idade desconhecida (não-marcadas).....	36
4.3	Obtenção dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i>	37
4.4	Avaliação dos óleos essenciais sobre as abelhas campeiras <i>Apis mellifera</i> africanizada, com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas), em condições de laboratório.....	38
4.4.1	Bioensaio 1: Toxicidade dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i> em abelhas <i>Apis mellifera</i> africanizada com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas), após contato direto em superfície vítrea	39
4.4.2	Bioensaio 2: Ação dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i> pulverizados sobre abelhas campeiras de <i>Apis mellifera</i> africanizada com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas).....	41
4.4.3	Bioensaio 3: Ação dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i>, por ingestão, em abelhas campeiras de <i>Apis mellifera</i> africanizada, com idade conhecida (marcadas) e desconhecida (não-marcadas).....	42
4.4.4	Bioensaio 4: Análise de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) de abelhas campeiras <i>Apis mellifera</i> com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas), após pulverização dos tratamentos.....	43

5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
6.1	Toxicidade dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i> em <i>Apis mellifera</i>, após contato direto em superfície vítrea	47
6.2	Óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i> pulverizados sobre <i>Apis mellifera</i> com idade conhecida e com idade desconhecida	50
6.3	Efeito dos óleos essenciais de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Pogostemon cablin</i>, por ingestão, sobre <i>Apis mellifera</i>	53
6.4	Análise de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) de abelhas campeiras <i>Apis mellifera</i>	56
6.4.1	Deslocamento vertical	56
6.4.2	Retomada de voo	57
7	DISCUSSÃO	59
	REFERÊNCIA	68
	APÊNDICE A	100

1 INTRODUÇÃO

As abelhas da espécie *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae) são insetos sociais, que devido a capacidade de forrageamento, são responsáveis por 80% da polinização global (CALDERONE, 2012; EERAERTS; SMAGGHE; MEEUS, 2020; GARIBALDI *et al.*, 2014; HUNG *et al.*, 2018; IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012a; MCGRADY; TROYER; FLEISCHER, 2020; POTTS *et al.*, 2016; WRIGHT *et al.*, 2018). As abelhas contribuem para a manutenção e promoção da diversidade de espécies de plantas, gerando um aumento na produtividade agrícola e garantindo a sobrevivência de animais que se alimentam de plantas, frutas e sementes. Além disso, são produtoras de mel, geleia real, própolis, cera e apitoxina (COUTO; COUTO, 2006; KUSHRAM; SAHU; BAIRWA, 2022; TAUTZ, 2010).

Durante a polinização as abelhas visitam em um único dia uma ampla variedade de flores, com o propósito de levar pólen e néctar até a colmeia, o que garante a sua sobrevivência (GOULSON *et al.*, 2015; HUNG *et al.*, 2018; PISA *et al.*, 2015). As culturas polinizadas pela espécie *A. mellifera* apresentam melhora na produção, aumentando a qualidade de sementes por fruto, maior valor nutritivo, sabor e durabilidade (CALDERONE, 2012; GIANNINI *et al.*, 2015a; IPBES, 2016; POTTS *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2022).

No Brasil, calcula-se que a polinização relacionada a produção agrícola tem um valor anual de US\$ 12 bilhões, nos Estados Unidos US\$ 14,6 bilhões e no Reino Unido US\$ 440 milhões, por ano (GIANNINI *et al.*, 2015b). Assim, a valoração econômica da polinização aponta um montante avaliado 235 a 577 bilhões de dólares por ano, no mundo (IPBES, 2016; POTTS *et al.*, 2016).

No entanto, o mesmo ambiente que fornece o alimento pode prejudicar estes polinizadores, já que o contato com poluentes, como inseticidas químicos sintéticos, ou patógenos, é facilitado (MORAWERTZ *et al.*, 2019; POTTS *et al.*, 2010; STANLEY *et al.*, 2015; SCHMUCK; LEWIS, 2016). Desta forma, ao voltarem para a colmeia, ocorre a contaminação de todos os indivíduos da colônia. Esta contaminação, por sua vez, pode ser um dos fatores que ocasiona a Desordem do Colapso das Colônias (DCC) ou ainda a mortalidade de muitas abelhas (ABATI *et al.*, 2021; FRAZIER *et al.*, 2015; GONÇALVES, 2012; IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012b; LESKA *et al.*, 2021). Com isso, estratégias são necessárias para reduzir a utilização de produtos que causam o declínio dos polinizadores. Nesse sentido, um método que está sendo

utilizado como forma de controle são os óleos essenciais, baseado no emprego de plantas e seus componentes (GROOT; SCHMIDT, 2016; PAVELA; BENELLI, 2016; SHARMA *et al.*, 2019), também denominados de inseticidas botânicos. Como exemplos, as espécies *Pogostemon cablin* (Lamiaceae), conhecida como patchouli, e *Eugenia uniflora* (Myrtaceae), popularmente conhecida como pitangueira, produzem óleos essenciais com ação inseticida comprovada (ALBUQUERQUE, 2013; GAAL *et al.*, 2018; PAVELA, 2005; STENGER *et al.*, 2021).

O óleo essencial de *E. uniflora* (1,25%, 2,5% e 5%), apresenta potencial inseticida a soldados de *Atta laevigatta* Smith, 1858 (JUNG *et al.*, 2013). Este óleo também é tóxico a adultos, ninfas e ovos de *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro; Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), mas é seletivo ao parasitoide dos ovos deste mesmo inseto, *Cleruchoides noackae* Lin; Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae) apresentando mortalidade superior às testemunhas (STENGER *et al.*, 2021).

O óleo essencial de *P. cablin* tem ação repelente a três espécies de formigas urbanas *Camponotus melanoticus* Emery, 1894, *Camponotus novograndensis* Mayr, 1870 e *Dorymyrmex thoracicus* Gallardo, 1916 (Hymenoptera: Formicidae), com aumento de toxicidade diretamente proporcional ao tempo de exposição (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013). Este óleo possui efeito inseticida contra *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762, *Anopheles stephensi* Liston, 1901 e *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) (KUPPUSAMY; GOKULAKRISHNAN, 2013).

Desta forma, os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* são uma alternativa para o controle de insetos-praga, mas ainda são necessárias pesquisas que avaliem a segurança destes sobre a sobrevivência e o comportamento de organismos não-alvos. Devido a importância das abelhas da espécie *A. mellifera* na polinização, e o comprometimento da perda deste polinizador nos serviços ecossistêmicos e no setor econômico, o estudo da seletividade dos produtos sobre este inseto é de grande importância. Nessa perspectiva, a avaliação da segurança dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* sobre operárias campeiras de *A. mellifera* é essencial, pois possibilita respostas sobre a segurança desses produtos quando aplicados nas culturas e com isso a promoção de técnicas de manejo sustentável para os agroecossistemas com potencial de novos inseticidas botânicos seletivos a organismos não-alvo.

2 OBJETIVOS

Avaliar a suscetibilidade de abelhas campeiras de idade conhecida (marcadas) e idade desconhecida (não-marcadas) de *Apis mellifera* africanizada aos óleos essenciais de pitangueira (*Eugenia uniflora*) e de patchouli (*Pogostemon cablin*).

2.1 Objetivos específicos

Verificar o efeito dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin*, em contato em superfície vítrea, pulverização direta e ingestão sobre a probabilidade de sobrevivência de abelhas campeiras de *A. mellifera* com idade conhecida (marcada) e idade desconhecida (não-marcada), em condições de laboratório;

Analisar o efeito dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* sobre o comportamento de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) de campeiras com idade conhecida e desconhecida; após 24 horas de exposição.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Biologia e caracterização de *Apis mellifera* africanizada

No mundo são relatadas mais de 20 mil espécies de abelhas, sendo que no Brasil foram descritas mais de 2.500 espécies, a maioria de abelhas nativas sem ferrão (BARBOSA *et al.*, 2017). Dentre as espécies do gênero *Apis* estão: *Apis mellifera* L. 1758, *Apis florea* Fabricius, 1787, *Apis dorsata* Fabrício, 1793, *Apis cerana* Fabricius, 1793, *Apis korchevniskov* Enderlein, 1906, *Apis andreniformis* Smith, 1858, *Apis laboriosa* Smith, 1871, *Apis cerana nuluensis* Tingek; Koeniger, 1996 e *Apis nigrocincta* Smith, 1861, consideradas produtoras de mel (DÁVILA e MARCHINI, 2005; PIRES *et al.*, 2016).

As abelhas apresentam um exoesqueleto constituído de quitina, que proporciona rigidez, resistência e proteção para os órgãos internos e sustentação para os músculos, além de proteção contra a perda excessiva de água (BONFIM; OLIVEIRA; FREITAS, 2017). O corpo de *A. mellifera* é dividido em três partes: cabeça, tórax e abdome. A cabeça tem os olhos simples (ocelos) e compostos (omatídeos) com função de percepção de luz, cor e movimento (ITAGIBA, 1997). Possui um par de antenas com estruturas para auxiliá-las no sentido do olfato, tato e vibrações, que transformam em informação para a abelha. Os pelos na cabeça, chamados de pelos sensoriais auxiliam na proteção contra poeira e água (COUTO; COUTO, 2006; EMBRAPA, 2003; RAMOS; CARVALHO, 2007; WINSTON, 2003).

As abelhas *A. mellifera* medem aproximadamente 11 mm de comprimento, possui o abdome largo com presença de pelos. O tempo de desenvolvimento em dias da espécie *A. mellifera* em ovo, larva, pupa e adulto está representado na Tabela 1. O ovo é cilíndrico, com cerca de 1,6 mm de comprimento e 0,4 mm de altura, com uma abertura conhecida como micrópila, por onde ocorre a penetração dos espermatozoides (COUTO; COUTO, 2006).

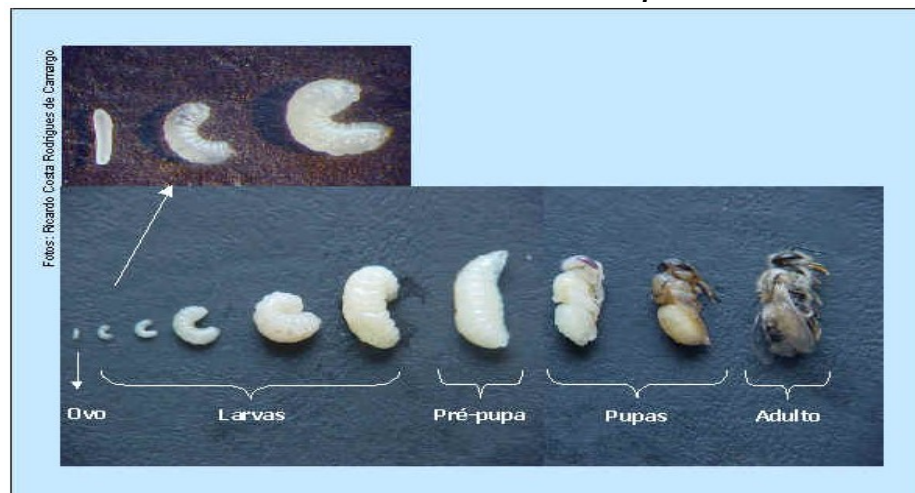
Tabela 1 - Ciclo de desenvolvimento (dias) de rainha, operária e zangão de *Apis mellifera* africanizada.

Casta\estágio	Tempo de desenvolvimento em dias			
	Ovo	Larva	Pupa	Total (dias)
Rainha	3	5	7	15
Operárias	3	5	12	20
Zangões	3	6,5	14,5	24

Fonte: WITTER; NUNES-SILVA (2014)

A larva (Figura 1) ao eclodir do ovo mede 1,6 mm de comprimento, é vermiforme, com 13 segmentos, não defeca no alveolo durante o período de desenvolvimento e não possui nenhuma semelhança com o adulto (CRUZ-LANDIM, 2009). Antes de chegar na fase adulta ocorrem cinco ínstars, ocorrendo a troca de cutícula. Durante o desenvolvimento larval não ocorrem mudanças na forma do corpo do inseto. Após sete dias, na fase de pupa, as antenas, asas e pernas são evertidas, já ocorrendo a distinção dos olhos, tórax e abdome, e assim prossegue até o período adulto (COUTO; COUTO, 2006; TAUTZ, 2010).

Figura 1 - Fases do ciclo de desenvolvimento das abelhas *Apis mellifera* africanizada



Fonte: Embrapa (2003)

No início do desenvolvimento larval as diferenças alimentares se estabelecem entre operárias e rainhas. No 3º ínstar larval ocorre a morte celular nos ovários das operárias que se intensifica ao longo da fase larval, provocado pela diferença alimentar, pois as larvas de operárias recebem uma mistura de mel, pólen e geleia

real e as larvas de rainhas recebem, exclusivamente, geleia real, estabelecendo a diferença entre as duas castas, rainhas e operárias (CRUZ-LANDIM, 2002, 2009).

O aparelho bucal dos adultos é do tipo lambedor, composto por duas mandíbulas e língua (glossa), sendo importantes na coleta e transferência de alimento. As mandíbulas são usadas para manipular cera, própolis e pólen e por conterem estruturas fortes, também a utilizam para alimentar as larvas, limpeza dos favos e retirada de abelhas mortas de dentro da colmeia (COUTO; COUTO, 2006; EMBRAPA, 2003; PEREIRA *et al.*, 2003).

O tórax comporta o conjunto de órgãos locomotores (pernas e asas), constituído por três segmentos sendo que em cada segmento ocorre um par de pernas. As pernas posteriores são adaptadas, possuindo a corbícula, local que facilita o armazenamento dos grãos de pólen (Figura 2 e 3) ou resina para transportar até a colmeia. Os dois segmentos posteriores apresentam um par de asas cada, com estrutura membranosa que auxilia no voo (ABELHA, 2020; COUTO; COUTO, 2006; EMBRAPA, 2003; RAMOS; CARVALHO, 2007; ITAGIBA, 1997).

Fotografia 1 e 2 - Abelhas campeiras de *Apis mellifera* africanizada capturadas na entrada da colmeia, contendo pólen nas corbículas



Fonte: Aatoria própria (2022)

O abdome possui sete segmentos, onde estão presentes as estruturas que fazem parte do sistema digestório e o sistema ovipositor modificado, denominado ferrão, que está presente apenas nas rainhas e operárias (COUTO; COUTO, 2006; EMBRAPA, 2003; GALLO *et al.*, 2002; TAUTZ, 2010). O sistema digestório das abelhas é dividido em três regiões: estomodeu ou intestino anterior, mesêntero ou

ventrículo, e proctodeu ou intestino posterior. O mesêntero é considerado o estômago funcional dos insetos, pois apresenta invaginações e microvilosidades, que são responsáveis pela absorção dos nutrientes, aumentando a superfície de troca e aumento da absorção celular e é o local onde ocorre a maior parte da digestão (CRUZ-LANDIM, 2009).

3.2 Organização social de *Apis mellifera* africanizada

As abelhas *A. mellifera* são insetos sociais que vivem em colônias, apresentando a rainha (a única fêmea reprodutora), as operárias (cerca de 5.000 a 100.000, responsáveis pelo trabalho na colmeia) e os zangões (de 0 a 400, macho reprodutor). As funções são executadas por cada indivíduo, para assim assegurar os cuidados e, conseqüentemente, a sobrevivência da colônia (EMBRAPA, 2007; GALLO *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2003; RAMOS; CARVALHO, 2007).

A rainha, com 9 a 12 dias da idade adulta, realiza o voo nupcial e libera feromônio que atrai os zangões para copular, podendo ser fecundada por até 17 zangões e o sêmen fica armazenado na espermateca, com espermatozoides para toda sua vida reprodutiva (COUTO; COUTO, 2006; WIESE, 2005). A postura de ovos inicia de cinco a seis dias após a fecundação e vai variar de 1.500 a 2.000 ovos por dia, dependendo e as condições da florada. A rainha em uma colônia pode ser substituída quando não cumprir com sua função sendo esta, principalmente, a postura. Para gerar uma rainha, as operárias alimentam as larvas apenas com geleia real, em um alvéolo chamado realeira. Já as larvas que, a partir do 2º dia recebem mel e pólen darão origem as operárias (ABELHA, 2020; APACAME, 2014; MICAS, 2012; WRIGHT *et al.*, 2018).

A rainha coloca seus ovos no fundo do alvéolo. Logo depois da postura, ocorre a eclosão, que continua no fundo do alvéolo, com o corpo encurvado, em formato de “C”. Quando está no final da fase larval os alvéolos são tampados com cera. Na fase de pupa, é possível distinguir a cabeça, o tórax, o abdome, os olhos, as pernas e as asas (Figura 1) (RAMOS; CARVALHO, 2007; PEREIRA *et al.*, 2003).

Os zangões são os indivíduos machos da colônia, originados por partenogênese. Apresentam olhos compostos mais desenvolvidos, antenas com maior capacidade olfativa e a musculatura de voo mais desenvolvida que permite orientação, percepção e rapidez para a localização de rainhas durante o voo nupcial (RAMOS; CARVALHO, 2007). A principal função dos zangões é fecundar a rainha

durante o voo nupcial, logo após a cópula, o zangão morre devido a seu órgão genital ficar preso no órgão genital da fêmea (COUTO; COUTO, 2006, STRAUB *et al.*, 2016).

As operárias são responsáveis por controlar a postura de ovos da rainha, quando possui alimento disponível, impulsiona a rainha a depositar mais ovos. Quando diminui a quantidade de alimento, automaticamente, as operárias param de oferecer geleia real para a rainha, assim esta reduz a postura. Se ocorre a morte da rainha, as operárias escolhem as larvas e passam a alimentá-las com geleia real, até virar rainha (BONFIM; OLIVEIRA; FREITAS, 2017).

As abelhas operárias se diferem da rainha pois possuem o órgão reprodutor atrofiado, ocorre uma transformação do ovipositor em ferrão, que é o órgão de defesa utilizado contra invasores que se aproxima da colmeia. Elas também são responsáveis por todo o trabalho da colmeia, coletam alimentos como néctar, pólen e água, realizam a limpeza da colmeia e cuidam das crias da rainha. As funções diferem conforme a idade e necessidades da colônia (Tabela 2). No decorrer desse processo pode haver variabilidade nestes tempos dependendo de fatores ambientais, temperatura e nutrição (GALLO *et al.*, 2002; RAMOS; CARVALHO, 2007; WITTER *et al.*, 2014).

Tabela 2 - Funções realizadas pelas operárias de *Apis mellifera* africanizada de acordo com a idade.

Idade (dias)	Nome	Função
1 a 5	Faxineiras	Realizam a limpeza dos alvéolos e de abelhas recém-nascidas.
5 a 10	Nutrizes	Responsáveis por cuidar da alimentação das larvas. E desenvolve as glândulas hipofaríngeas e mandibulares, produtoras de geleia real.
11 ao 20	Construtoras	Produção de cera para construção dos favos, quando há necessidade.
18 ao 21	Guardas	Exercem a defesa da colmeia. Podem também participar do controle da temperatura na colmeia.
A partir de 21	Campeiras ou forrageiras	Coletam néctar, pólen, resinas e água. São denominadas campeiras ou forrageiras.

Fonte: BONFIM; FREITAS; OLIVEIRA (2017)

A colônia precisa estar com a temperatura e umidade ideal para ocorrer a fermentação do pólen e mel. Nesse sentido, as operárias possuem um mecanismo essencial, no qual nos dias quentes, transportam mais água para o interior da colônia e fazem vibrações com as asas, criando fluxos de ar, esse processo faz com que a

temperatura diminua. Já nos dias frios, as abelhas se unem dentro da colmeia, com o metabolismo acelerado que auxilia no aquecimento da colônia (PALUDO, 2017).

3.3 *Apis mellifera* africanizada e apicultura brasileira

A espécie *A. mellifera* é a mais importante para a apicultura, devido aos seus serviços ecossistêmicos e a produção de própolis, mel, geleia real, cera e apitoxina que podem ser comercializados (ABEMEL, 2015; COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; DOMINGOS; NÓBREGA; SILVA, 2016). Além disso, constantemente as caixas de criação são fornecidas em aluguel para polinização de culturas agrícolas e florestais (ASSAD *et al.*, 2018; NETTO *et al.*, 2018; SILVA, 2016), gerando renda extra de até R\$ 700 mil (ACAPAME, 2014).

No Brasil a Apicultura teve início no ano de 1839, quando o padre Antônio Carneiro Aurélio trouxe de Portugal para o Rio de Janeiro algumas colônias de abelhas da espécie *A. mellifera* (*Abelha-Europeia*). Logo, outras raças de abelhas foram introduzidas nas regiões Sul e Sudeste, mediante imigrantes europeus (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002; FAITA *et al.*, 2021; RAMOS; CARVALHO, 2007).

No ano de 1956, o pesquisador da apicultura brasileira Dr. Warwick Estevan Kerr iniciou seus estudos com abelhas africanas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836, e viajou para África para selecionar rainhas africanas mais produtivas e resistentes a doenças e pragas (insetos e ácaros) que acometia as colônias na época (COUTO e COUTO, 2006; GONÇALVES, 1975). Dr. Kerr teve como objetivo pesquisar a produtividade de abelhas africanas *A. mellifera scutellata* e comparar com a produtividade das abelhas europeias (*Apis mellifera*, *Apis ligustica*, *Apis caucasica* e *Apis carnica*). Além disso, objetivou indicar quais as abelhas apresentavam maior potencial de adaptação ao Brasil (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002; SANTOS; MENDES, 2016).

As abelhas rainhas africanas, no ano de 1957, cruzaram acidentalmente com as abelhas europeias, levando ao surgimento de populações poli-híbridas, denominadas abelhas africanizadas (KERR, 1967; OLIVEIRA; CUNHA, 2005; PEGORARO *et al.*, 2017; SOARES, 2012). Como as técnicas de manejo local eram adaptadas as abelhas europeias, com vestimentas e as técnicas inadequadas para as abelhas africanizadas, ocorreram diversos acidentes e muitos apicultores abandonaram suas atividades (RAMOS; CARVALHO, 2007; SOUZA, 2010; SANTOS; MENDES, 2016).

Somente a partir de 1970, a apicultura brasileira se desenvolveu e os pesquisadores passaram a se adaptar as novas técnicas e aprenderam a lidar com as abelhas africanizadas. A “agressividade” que era antes considerada um problema, passou a ser vista como uma vantagem, pois as abelhas africanizadas possuem capacidade de defesa da colônia, são mais resistentes a pragas e doenças e, em comparação com as europeias, conseguem se adaptar em ambientes diversos (NOUVIAN; REINHARD; GIURFA, 2016; RAMOS; CARVALHO, 2007; SÁ; SOUSA, 2019; SILVEIRA *et al.*, 2015).

Além disso as abelhas africanas se adaptam em climas frios, mantendo seu trabalho mesmo em temperaturas baixas, ao contrário das europeias que cessa suas atividades. As abelhas africanas são mais defensivas, com visão eficaz e resposta rápida na liberação do feromônio de alarme, fator que estimula a “defensividade” das abelhas na defesa da colônia (SILVEIRA *et al.*, 2015). O ciclo de desenvolvimento das abelhas europeias é de 21 dias, já das abelhas africanas é precoce, 18 a 19 dias, lhes garantindo vantagem na tolerância contra doenças, principalmente o ácaro *Varroa* (MORFIN; BAEZ; GUZMÁN-NOVOA, 2021; PEREIRA *et al.*, 2003; PEGORARO *et al.*, 2017).

As abelhas *A. mellifera* africanizadas são as principais responsáveis pelo desenvolvimento apícola no Brasil (BRAGAIA, 2022; SEBRAE, 2015; OLINTO *et al.*, 2015; PERUZZOLO, 2019). Em 2021, o Brasil exportou 9 mil toneladas de mel, obtendo um lucro de US\$ 29,151 milhões. O estado do Piauí foi o que mais exportou, apresentando um volume de 2,8 mil toneladas de mel (AGROSTAT, 2021). No mesmo ano, o estado do Paraná exportou 2.4 mil toneladas de mel, se destacando como segundo maior exportador com faturamento de US\$ 6.360 milhões (SEAB, 2021). Além disso, o Brasil é terceiro maior produtor de própolis no mundo, com uma produção estimada de 50 a 150 toneladas por ano, destes 75% exportado para o Japão (SILVA *et al.*, 2016).

3.3.1 Importância de *Apis mellifera* nos agroecossistemas

Algumas espécies vegetais necessitam da água ou o vento (fatores abióticos) para se reproduzirem, mas a maioria das plantas superiores tem o auxílio de aves, morcegos, besouros, borboletas, mariposas, vespas e, principalmente, de abelhas (CGEE; 2017, COUTO; COUTO, 2006; IPBES; 2017). O comportamento de

fORAGEAMENTO realizado pelas abelhas é considerado essencial para que ocorra o processo de polinização (EERAERTS *et al.*, 2019; RICKETTS *et al.*, 2008).

A polinização envolve a transferência de pólen das anteras da flor para o estigma da mesma flor, o qual chama-se autopolinização ou ainda a transferência de pólen das anteras da flor para o estigma de outra flor que é a polinização cruzada (ALVES-DOS-SANTOS, *et al.*, 2016; BARBOSA; SOUSA, 2016; FERREIRA, 2015; FREITAS, 1995; GIANNINI *et al.*, 2015a; MALAGODI-BRAGA, 2018; OLLERTON; 2021). Dessa forma, ocorre o crescimento do tubo polínico desde o estigma até o estilete que é o canal que conduz o pólen até o óvulo presente no ovário, havendo a fecundação da oosfera (GULLAN, 2007).

A relação entre as abelhas e as flores é de dependência, resultado de uma co-evolução entre ambas (BARÔNIO *et al.*, 2016; JOHNSON *et al.*, 2015). Isto ocorre porque as flores as atraem com seu aroma, coloração e forma e ainda fornecem alimentos como néctar e o pólen, e em contrapartida, as abelhas transferem o pólen entre as flores (FREITAS, 1998; PATATT; BEIER; MARTINAZZO, 2011), realizando a polinização cruzada.

As abelhas *A. mellifera* possuem ação generalista eficiente (coleta alimento em várias espécies de plantas), o que viabiliza e aumenta a produção de diversas culturas como café, pepino, algodão, soja, castanhas e frutíferas (ALMEIDA; NAVES; XIMENES, 2007; BREEZE *et al.*, 2014; EERAERTS *et al.*, 2019; GIANNINI *et al.*, 2015a; HIPÓLITO; BOSCOLO; VIANA, 2018; IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012a; ROUBIK; 2018; SAEZ *et al.*, 2019). Na cultura do tomate (*Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae: Solanale)) a polinização realizada por *A. mellifera* influencia a qualidade dos frutos formados, como frutos mais pesados e com mais sementes (CARVALHO, 2017). As abelhas desta espécie também são determinantes no rendimento da qualidade e quantidade da cultura de morango, aumentando 92% o valor comercial médio da fruta (WIETZKE *et al.*, 2018).

Culturas como o melão, melancia e maçã são extremamente dependentes da polinização, com cerca de 80% da produção atrelada a ação das abelhas (BPBES, 2019). Na avaliação sobre interações entre polinizadores e diferentes culturas agrícolas, totalizou-se 261 registros com 144 espécies de abelhas e 23 culturas. Dentre todas as espécies de abelhas avaliadas, *A. mellifera* apresentou os maiores para o número de interações e o valor total do serviço de polinização, que respondeu por 66% do seu valor total de serviço de polinização (GIANNINI *et al.*, 2020).

Este polinizador também tem grande importância na cultura do girassol (*Helianthus annuus* Linnaeus, 1758 (Asteraceae: Asterales)) com ação no acréscimo no número de sementes e peso das plantas, se comparado com a polinização realizada por outras espécies de polinizadores (ABBASI *et al.*, 2021). A presença desta abelha também favorece a produtividade de uma das principais plantas cultivadas em território brasileiro, a soja (*Glycine max* L. (Fabaceae: Fabales). As plantas de soja polinizadas por *A. mellifera* apresentaram um aumento de 7% na produtividade, se comparando com os tratamentos não polinizados pela espécie (SANTOS *et al.*, 2019).

Em frutíferas, sabe-se que a polinização realizada pela espécie *A. mellifera* gera frutos de kiwi (*Actinidia deliciosa* Liang; Ferguson, 1984 (Actinidiaceae: Ericales)) com melhor aspecto e com mais sementes do que os produzidos pelas plantas polinizadas artificialmente (DAVID *et al.*, 2022). Como na produção de algodão (*Gossypium* L. (Malvaceae: Malvales)) as abelhas *A. mellifera* geram 17% mais semente por fruto, com as sementes mais resistentes, tendo um acréscimo de 16% no peso da fibra (SILVA, 2019). Na produção de canola (*Brassica napus* L. (Brassicaceae: Brassicales)) houve um crescimento de 12% a 47% na produção de grãos, quando comparada com a autogamia (JUNIOR *et al.*, 2019).

Verificou-se que, além de maior produtividade nas culturas, melhora também a qualidade, como ganho de peso de frutos e sementes, aumento da produção e valor de mercado quando polinizadas por *A. mellifera* (CALDERONE, 2012; GIANNINI *et al.*, 2015b; IPBES, 2016; IMPERATRIZ-FONSECA, 2012a; POTTS *et al.*, 2010). Destaca-se assim, a importância e a necessidade de garantir a preservação dos polinizadores (GALETTO *et al.*, 2022; VANBERGEN, 2013), principalmente da abelha africanizada *A. mellifera* (HUNG *et al.*, 2018; OSTERMAN *et al.*, 2021). Sobre esta espécie de abelha há vários relatos sobre seu desaparecimento e também relatos de mortalidade (ABATI *et al.*, 2021).

3.4 Desordem do Colapso das Colônias (DCC) e Mortalidade das Abelhas

O desaparecimento que está acontecendo com as abelhas *A. mellifera* é conhecido como Desordem do Colapso das Colônias (DCC) ou em inglês *Colony collapse Disorder* (CCD). O primeiro alerta ocorreu no ano de 2006 nos Estados Unidos da América, assim como na Alemanha, Suíça e Península Ibérica onde milhares de colônias desapareceram em poucas semanas (GONÇALVES, 2012;

VANENGELSDORP *et al.*, 2009, 2007). Tendo como consequência a diminuição econômica de várias culturas agrícolas, assim como uma diminuição na produção de alimentos (COSTA-MAIA; LINO-LOURENÇO; TOLEDO, 2010; POTTS *et al.*, 2016).

Em 2007, apicultores do Estado da Califórnia, localizado no Oeste dos EUA, relataram um declínio das abelhas, o que enfraquecia o restante da colônia, diminuindo a polinização de amendoeiras (*Prunus dulcis* Mill, 1832 (Rosaceae: Rosales) (PIRES *et al.*, 2016). No ano de 2014, os apicultores tiveram perdas de 43% das colônias *A. mellifera* nos EUA (LEE *et al.*, 2015). No Brasil a partir do ano de 2007, ocorreram os primeiros relatos de perda das colônias no estado de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina, caracterizando os mesmos sintomas relatados por apicultores americanos (GONÇALVES, 2012; PIRES *et al.*, 2016; WILLIAMS *et al.*, 2010).

O DCC se caracteriza através de uma maciça diminuição de abelhas campeiras (CERQUEIRA, 2018; CASTILHOS, 2018; FAITA *et al.*, 2021; FREITAS *et al.*, 2017; OLIVEIRA, 2015; PIRES *et al.*, 2016). Dentre as possíveis causas estão ações antrópicas diretas e indiretas causadas no meio ambiente, como variações climáticas, ação de agentes patogênicos (bactérias, vírus e ácaros) e o uso de agrotóxicos (BERINGER; MACIEL; TRAMONTINA, 2019; COSTA *et al.*, 2014; GOULSON *et al.*, 2015; POTTS *et al.*, 2010; ROSA *et al.*, 2018).

Estudos têm demonstrado que os agrotóxicos estão entre os principais causadores de DCC (FAROOQUI, 2013). Estes mesmos são responsáveis pela mortalidade das abelhas, já que ocorre contaminação durante o forrageamento e carregamento dos produtos contaminados para dentro da colônia (AMARO; GODINHO, 2012; IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012; WATSON; STALLINS, 2016).

As abelhas, ao entrar em contato com estes poluentes, perdem a capacidade de localização espacial, e não conseguem retornar a colônia (ROCHA, 2012; SEITZ *et al.*, 2016) morrendo nas proximidades da colmeia ou ainda no campo. Dessa forma, entre 2012 a 2018 os inseticidas piretroide deltametrina (piretroide) e acetamipride (neonicotinoides) utilizados com frequência na agricultura contra insetos-praga foram avaliados quanto ao risco que causaram as abelhas. O acetamipride não ocasionou interferências na longevidade das abelhas, ao contrário da deltametrina que interferiu na capacidade de aprendizagem das abelhas em retornar à colônia de origem e também, na excitabilidade neuronal de neurônios cerebrais ocasionando mortalidade da colônia (DWORZANSKA *et al.*, 2020). O neonicotinoides imidaclopride afetou a

taxa de retorno das forrageiras, reduzindo o retorno conforme ocorrem o aumento da dose (KARAHAN *et al.*, 2015).

Abati *et al.* (2021) realizaram uma análise cientométrica que apontou um aumento significativo nas pesquisas sobre o efeito dos agrotóxicos em abelhas, nos últimos 15 anos. Os efeitos apontados são o comprometimento da fisiologia, interferindo na transcrição de genes e no metabolismo, na microbiota intestinal, na qualidade do sêmen, no aprendizado, na memória, na atividade motora e na dança de comunicação, esses fatores contribuem para o desaparecimento das abelhas em longo prazo.

A maioria dos inseticidas possuem efeito neurotóxico isto é, danificam o sistema nervoso central, impedindo que ocorra a condução do impulso nervoso ao longo dos neurônios das células (PEREIRA, 2010). Com isto, pode ocorrer impulsos repetitivos, levando a uma hiperexcitação do sistema nervoso central e morte do inseto (LIRA, 2010). Apesar dos agrotóxicos serem importantes no manejo para o setor agrícola, quando usados excessivamente, podem ocasionar um declínio dos organismos não-alvo (ABATI, 2021; BATTISTI *et al.*, 2021; GOULSON *et al.*, 2015; ROSA *et al.*, 2018). Como alternativa ao uso desses agrotóxicos convencionais tem-se estudado e utilizado inseticidas botânicos, como os óleos essenciais.

3.5 Óleos essenciais para o controle de insetos

Mecanismos de defesas foram selecionados durante a evolução dos vegetais (BLEICHER, 2012). Dentre esses, mecanismos, o metabolismo secundário, pelo qual óleos são produzidos. Nesse sentido, as plantas e seus compostos começaram a ser utilizados na antiguidade para a obtenção de substâncias aromáticas e também de óleos para fins medicinais (GIANNENAS *et al.*, 2020). Já em 2018, segundo a indústria *Indian Ayurvedic Industry* (2020), o mercado mundial de óleo essencial atingiu um valor de US\$ 7,6 bilhões e calcula-se obter US\$ 15,1 bilhões até o ano de 2026, isso devido a funcionalidade e aplicações em vários setores e a utilização no ramo medicinal.

Além da importância terapêutica, os óleos essenciais são proeminentes no controle de insetos (ALMEIDA, 2017; BLEICHER, 2012; PAVELA; BENELLI, 2016; SIMAS *et al.*, 2004; SIMÕES; SPITZER, 2004; STENGER *et al.*, 2021). Portanto, algumas pesquisas desenvolvidas nos últimos anos têm sido realizadas visando

avaliar o efeito inseticida das espécies vegetais em inúmeros insetos-praga, dentre eles, *Chrysodeixis includens* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) (MASSAROLLI; PEREIRA; FOERSTER, 2017), *Diabrotica speciosa* Germar, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae) (LUIZ *et al.*, 2017), *Dinoderus minutus* Fabricio, 1775 (Coleoptera: Bostrichidae) (SILVA *et al.*, 2019), *Atta sexdens* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Formicidae) (ALVES *et al.*, 2019), *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) (ALVES *et al.*, 2018; MENEZES *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2018), *Ae. Aegypti* (FERNANDES *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais estão presentes nas folhas, frutos, flores e caule das plantas, por possuírem características lipofílicas, voláteis e odoríferas. Estes possuem ampla diversidade de princípios químicos, tais como terpenos, aldeídos, cetonas, fenóis, entre outros. Os terpenos são tóxicos e já utilizados como inseticidas (CAMPOS *et al.*, 2018; DAMBOLENA *et al.*, 2016). E apresentam como base isoprenos (C₅H₈), classificados em monoterpenos, sesquiterpenos diterpenos e triterpenos, extraídos de glândulas específicas das plantas (CAMPOS *et al.*, 2018; SERAFINI *et al.*, 2002; TRANCOSO, 2013). Os monoterpenos e sesquiterpenos são os mais encontrados na composição química dos óleos essenciais e agem de forma bioativa e voláteis contra bactérias (ARAÚJO; TEBALDI, 2019; CONTRUCCI *et al.*, 2019) fungos (CASSINELLI *et al.*, 2019; DZAMIC *et al.*, 2019; PEREIRA *et al.*, 2018; PERVEEN *et al.*, 2018; PIMENTA *et al.*, 2019; SIEGA, 2018; ZIMMERMANN *et al.*, 2019), ácaros (BORDIN *et al.*, 2021; CHENG *et al.*, 2019; VERONEZ; SATRO; NICASTRO, 2012; SOUZA *et al.*, 2015), e principalmente, insetos-praga (AVILA, 2020; BAPTISTA, 2021; FERREIRA *et al.*, 2021; REIS, 2018; DA SILVA, 2020).

Os métodos de extração dos óleos essenciais envolvem processos físicos; destilação a vapor, extração de dióxido de carbono (CO₂), hidrodestilação, destilação de bolhas de água, destilação a vapor de água (O₂) (PREETI; SANJAYKUMAR; MEGHAL, 2021). Ao ser comparados aos inseticidas químicos sintéticos, os óleos essenciais possuem rápida degradação, baixa toxicidade para mamíferos, complexidade química e diferentes mecanismos de ação (ALENCAR, 2015; DANTAS *et al.*, 2018; VIEIRA *et al.*, 2016). Tendo como desvantagens a questão econômica e a dificuldade de extração, pois necessita maior quantidade de material vegetal, o que pode afetar pequenos produtores em adotar essa forma de controle (VIEIRA *et al.*, 2016).

O Brasil possui 49.280 espécies nativas de plantas reconhecidas, evidenciando o potencial de estudos das atividades biológicas e eventual uso dos compostos secundários para atuarem como repelente e inseticidas (SPLETOZER *et al.*, 2021). Nesse sentido, plantas nativas ou exóticas devem ser estudadas quanto seu efeito inseticida, como também seus efeitos letais e subletais em organismos não-alvo, como as abelhas *A. mellifera* para, posteriormente, a utilização desses compostos no controle de pragas presentes nos agroecossistemas (GIMÉNEZ-MARTÍNEZ, 2021).

3.5.1 Óleo essencial de Patchouli (*Pogostemon cablin*)

Pogostemon cablin (Blanc) Bent pertence à família Lamiaceae e popularmente conhecida como patchouli (JUNREN *et al.*, 2021). Este nome é originalmente obtido da palavra patchai (Tamil), que significa “folha verde” (PREEDY, 2015; NITHYANAND *et al.*, 2015; KONGKATHIP *et al.*, 2009). No ano de 1845, o botânico Pelletier-Sautelet, nomeou pela primeira vez o patchouli, nas Filipinas, utilizada na época para o tratamento de doenças. A planta é considerada uma cultura lucrativa na Índia, Indonésia, Malásia, China e na América do Sul (DAS *et al.*, 2016; RAMYA; PALANIMUTHU; RACHNA, 2013; SWAMY; SINNI AH, 2016).

O patchouli se desenvolve em ambientes quentes e úmidos, temperatura entre 24 e 28°C, altitude entre 0 e 1.200 m, especificadamente, entre 10 e 400 m, exigindo solo fértil rico em nutrientes (DAS *et al.*, 2016; RAMYA; PALANIMUTHU; RACHNA, 2013; SANDES *et al.*, 2012). É uma espécie vegetal perene, que mede 1 a 1,2 m de altura. Nas suas folhas é produzido o óleo essencial pelas glândulas de óleos no mesófilo, nos tricomas glandulares peltados e tricomas glandulares capitados (SANDES, *et al.* 2012; SAVOIA *et al.*, 2012). Os tricomas glandulares liberam um odor característico da planta, existindo variações nos cultivares entre os locais de origem, alterando a quantidade, conteúdo e composição dos óleos (KONGKATHIP *et al.*, 2009). A espécie produz em torno de 0,4% de óleo essencial em peso seco (TADTONG *et al.*, 2016; MURUGAN; LIVINGSTONE, 2010).

O óleo essencial de patchouli é um dos óleos essenciais mais usados na indústria de perfumaria e cosméticos (SWAMY; SINNI AH, 2015), também tem sido utilizado na produção de medicamentos e em pesquisas sobre o seu potencial inseticida e repelente (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013; VAN BEEK; JOULAIN, 2018;

MESEGUER *et al.*, 2018; RAMYA; PALANIMUTHU; RACHNA, 2013). O óleo essencial de *P. cablin* é tóxico a cupins do gênero *Amitermes* (Termitidae: Blattodea) e *Microcerotermes* (Isoptera: Termitidae) (BACCI *et al.*, 2015), ocasiona 100% de mortalidade no pulgão *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Hemiptera: Aphididae) (GUPTA; SURANJANA, 2015) reduz a velocidade de deslocamento das operárias *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, *A. sexdens* e *A. sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae) (ROCHA *et al.*, 2018). A associação de *P. cablin* com *Beauveria bassiana* Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae) provocou mais 66% de mortalidade em operárias de *A. sexdens* (RICARDO, 2019). Também é tóxico e repelente a *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), *Lasioderma serricorne* Fabricius, 1792 (Coleoptera: Ptinidae) e *Liposcelis bostrychophila* Badonnel, 1931 (Psocoptera: Liposcelididae) (FENG *et al.*, 2019).

Devido aos efeitos tóxicos, estudos acerca da sua segurança a *A. mellifera* têm sido desenvolvidos. Santos *et al.*, (2012), observaram efeito tóxico do óleo essencial de patchouli aplicado de forma tópica em abelhas operárias de *A. mellifera*. O óleo essencial de *P. cablin* reduziram em 60% a sobrevivência de operárias de *A. mellifera* (PINHEIRO; POTRICH; COLOMBO, 2018). Em operárias recém emergidas, a toxicidade pode ser observada tanto em pulverização, quanto ingerido pelas abelhas, com redução na longevidade (COLOMBO, 2019).

3.5.2 Óleo essencial de Pitangueira (*Eugenia uniflora*)

A pitangueira (*Eugenia uniflora* L), também conhecida popularmente como pitanga ou pitanga-vermelha é uma planta dicotiledônea, pertencente à família Myrtaceae, composta por mais de 100 gêneros e 3.600 espécies de árvores (AURICCHIO; BACCHI; 2003; SOUZA; LORENZI, 2005; SILVA, 2006). Nativa da mata Atlântica brasileira o significado do nome é derivado do tupi “pi’tãg” remetendo à cor do seu fruto, o vermelho (BEZERRA *et al.*, 2000; DONADIO *et al.*, 2002; FRANZON *et al.*, 2018). Possui características edafoclimática favoráveis ao seu cultivo, se adapta a diferentes condições de solo e clima, assim é encontrada em países da América do Sul, Sul da Ásia e África (FIUZA *et al.*, 2008; GROSSMAN *et al.*, 2010; ROTMAN, 1995; SILVA, 2006).

Seus frutos são pequenos (0,5 de diâmetro) com coloração que passa do verde para o amarelo, alaranjado, vermelho e o vermelho-escuro, são comestíveis com um aroma doce. Habita lugares quentes e úmidos, próprio para o desenvolvimento do fruto (FRANZON *et al.*, 2008). Considerada de porte médio, varia de 6 a 12 metros de altura, dependendo das condições do solo (FRANZON *et al.*, 2008). As folhas são descritas como simples, quando jovens a cor é verde amarronzada com consistência membranácea, quando adultas subcoriáceas. Suas folhas e ramos são usados para extração de óleo essencial (STEFENI, 2018).

Os óleos essenciais de *E uniflora* podem ser utilizados para fins terapêuticos (CUNHA, 2019; OGUNWANDE *et al.*, 2005; QUEIROZ *et al.*, 2015; SILVA, 2015; VICTORIA *et al.*, 2013), ação anti-inflamatória, antimicrobiana e antifúngica (BEZERRA *et al.*, 2018; SVIECH *et al.*, 2019; SILVA, 2017; PEREIRA *et al.*, 2017; PEREIRA; MONTEIRO; SIQUEIRA, 2020; PEIXOTO; OLIVEIRA; CABRAL, 2009, LAGO *et al.*, 2011; VICTORIA *et al.*, 2012; GARCIA, 2018) pela indústria cosmética (GALLUCCI *et al.*, 2010; FERNANDA, 2012; MELO *et al.*, 2007; SANTANA *et al.*, 2019) e para o controle de insetos-praga (ALTOE, 2016; CUNHA *et al.*, 2015; JUNG *et al.*, 2013; LOBO *et al.*, 2019; MACIEL, 2015; MATA, 2015; OLIVEIRA, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2022; PEGORINI, 2016; SAITO; LUCCHINI, 1998; STASIAK, 2018; STENGER *et al.*, 2021).

A espécie *E. uniflora* é dotada de compostos fenólicos como flavonoides, terpenos, taninos, antraquinonas (AMORIM *et al.*, 2009). Há poucas informações sobre os efeitos deste óleo essencial sobre as abelhas *A. mellifera*. A toxicidade de *E.*

uniflora a operárias recém-emergidas de *A. mellifera* africanizada foi verificado quando este óleo foi pulverizado sobre estas e ao ser incorporado ao alimento reduzindo a longevidade das abelhas (COLOMBO, 2019). No entanto, sabe-se que o óleo essencial de *E. uniflora* tem potencial para o controle de insetos-praga de importância na zootécnia (ALTOE, 2016; DIAS, 2015; LIMA *et al.*, 2015; PEGORINI *et al.*, 2016), agrícola (FRANÇOSO; BARBEDO, 2014; VILANI *et al.*, 2013) e florestal (JUNG *et al.*, 2013; STENGER *et al.*, 2021).

3.6 Influência da idade na suscetibilidade de abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada

Estudos destacam que a suscetibilidade de operárias de *A. mellifera* pode variar conforme a idade na qual ela foi exposta a determinado agente, como agrotóxicos, inseticidas botânicos, agentes de controle biológico, dentre outros. Assim, as campeiras podem ser menos suscetíveis aos produtos, mas acabam levando à colônia o produto contaminado e expondo outras abelhas, mais suscetíveis, ao contato com estes, gerando impactos negativos na colônia.

Estudos que consideram a idade das operárias para avaliar os efeitos de produtos sobre as abelhas são considerados importantes (DOMINGUES *et al.*, 2020), já que não se tem total compreensão sobre como a idade afeta os padrões de desempenho do organismo. As abelhas campeiras, durante a forrageamento podem sofrer estresse térmico, exaustão física e contato com agentes patogênicos, riscos que as recém-emergidas não foram submetidas na mesma medida (REMOLINA *et al.*, 2007).

As abelhas *A. mellifera* campeiras foram mais resistentes que as abelhas recém-emergidas ao inseticida Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) (MALASPINA, 1979). A idade e o desenvolvimento comportamental das abelhas *A. mellifera* afetam a capacidade de voo, quando comparo-se as abelhas enfermeiras e as abelhas campeiras da colônia. As abelhas campeiras, de 7 a 14 dias de idade, apresentam menor frequência de batidas de asas, já em campeiras de idade entre 15 e 28 dias a frequência foi alta e em campeiras com 29 dias a frequência foi intermediária. O padrão do bater das asas coincide com as propriedades bioquímicas e metabólicas dependentes da idade (VANCE *et al.*, 2009).

A idade de abelhas também é fator determinante quando estas estão expostas ao *Deformed wing virus* (DWV), sendo que abelhas nutrizas e campeiras são as mais prejudicadas por este. Estas abelhas quando expostas a este vírus apresentam baixos teores de proteínas no cérebro, nas glândulas salivar torácica, salivar cefálica, mandibular e hipofaríngea, o que compromete o desenvolvimento da colônia (OLIVEIRA, 2013).

O inseticida fipronil em dose subletal (10 pg de fipronil por dia, ou seja, 1/100 de LD₅₀ /abelha/dia, durante cinco dias) foi tóxico para abelhas recém-emergidas e para campeiras marcadas. Mesmo com baixas doses de fipronil provoca alterações no padrão de expressão de proteínas, estresse químico neuronal, enovelamento de proteínas neuronais, maior ocorrência de apoptose, isquemia, problemas visuais, danos à formação de sinapses e degeneração cerebral, resultando no comprometimento da memória e aprendizado (ROAT *et al.*, 2014). A idade das abelhas *A. mellifera* são fontes significativas de variação que podem resultar em diferentes respostas aos inseticidas (RINKEVICH *et al.*, 2015). O inseticida clotianidina também é tóxico para abelhas recém-emergida e para campeiras, já para as larvas expostas causou efeitos posteriores a emergência, comprometendo a dinâmica da colônia (TADEI *et al.*, 2019).

O fungicida piraclostrobina induziu efeitos subletais no intestino médio das abelhas recém-emergidas e campeiras de *A. mellifera* africanizada, comprovadas por meio das análises histológicas e histoquímicas. Destacando que as abelhas campeiras foram mais sensíveis as concentrações residuais que as abelhas recém-emergidas. Entretanto, ambas as idades foram prejudicadas pelo fungicida, o que afeta a manutenção e saúde da colônia (DOMINGUES, 2021).

Desta forma, a idade da abelha é importante para determinar a suscetibilidade desta a produtos. Trabalhos realizados com campeiras de idade conhecida (marcadas) e desconhecidas (não-marcadas) podem apresentar diferenças nos resultados em experimentos de toxicidade. No entanto, a padronização da idade de campeiras é pouco explorado nestes estudos, mas pode estar relacionada a diferenças observadas em diversos trabalhos com campeiras que testaram os mesmos produtos (ASTOLFI, 2021; BOVI, 2013; GAÑALONS; FARINA, 2018; MENDES, 2022; PIRES *et al.*, 2018; SOARES, 2009; ZHU *et al.*, 2020).

4 METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico (LABCON) e na Unidade de Ensino e Pesquisa Apicultura (UNEPE-Apicultura) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

4.1 Obtenção das abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada com idade conhecida (marcadas)

As abelhas da espécie *A. mellifera* africanizada campeiras com idade conhecida (marcadas) foram obtidas dos quadros de colmeias do tipo *Langstroth* do Apiário da UNEPE, localizado na fazenda experimental da UTFPR-DV (Figura 4A). Os quadros foram alocados em quatro colmeias distintas (Figura 4B), baseado na qualidade e quantidade da oviposição da rainha, e receberam uma dieta diária artificial (proteína, açúcar, mel, pólen, soja lecitina, e um polivitamínico) até o início da oviposição. Quando foi observado a presença de ovos (Figura 4C), contou-se 19 dias. Depois de 19 dias os quadros foram removidos, embrulhados em sacos de papel Kraft (60 × 70 cm com gramatura de 50 mm), selados, perfurados e transportados para o LABCON, até a emergência (Figura 4D).

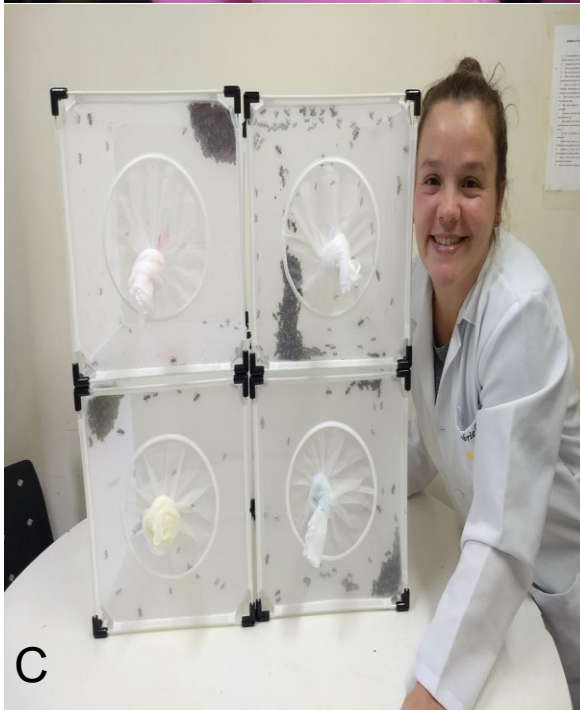
No laboratório os quadros foram alocados por dois a três dias em câmara climatizada tipo B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$) para simular o ambiente da colmeia de origem até a emergência, obtendo operárias com idades padronizadas. Aproximadamente 5.000 operárias recém-emergidas foram marcadas (Figura 5A e B) com marcador especial a base de água, atóxico e sem solventes (Posca®). A marcação foi feita na parte superior do toráx e as abelhas foram devolvidas para a colmeia de origem (Figura 5C). Para a devolução, (Figura 5D) foi pulverizado uma solução (água com açúcar) para que não ocorresse rejeição por parte das abelhas presentes na colmeia (Apêndice A).

Fotografia 3A - Apiário da Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE - Apicultura) - UTFPR-DV. B - Quadros de abelhas *Apis mellifera* africanizada sendo colocados em colmeias distintas. C - Observação da presença de ovos nos quadros colocados na colmeia. D - Quadros removidos, embrulhados em sacos de papel Kraft (60 × 70 cm com gramatura de 50 mm), selados, perfurados e transportados para o Laboratório de Controle Biológico, até a emergência



Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia 4A - Marcação das abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas. B - Abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas com idade conhecida (marcadas). C - Abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas com idade conhecida (marcadas) colocadas em gaiolas entomológicas para serem devolvidas para o apiário. D - Abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas com idade conhecida (marcadas) sendo devolvidas para a colônia de origem



Fonte: Autoria própria (2022)

Passados 21 dias (tempo médio que as abelhas necessitam para iniciar o forrageamento) as abelhas campeiras, com idade conhecida (marcadas), foram re-coletadas (Figura 6A e B) nas colmeias de origem e transferidas para gaiolas de PVC (Policloreto de vinilo) desinfectadas e cobertas com tecido *voile*. Estas foram transportadas ao LABCON e mantidas em câmara climatizada, tipo B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$), por no máximo 12 horas, até a montagem de cada bioensaio.

Fotografia 5 A e B - Abelhas *Apis mellifera* com idade conhecida (marcadas) coletadas na colmeia, 21 dias após a marcação em laboratório



Fonte: Autoria própria (2022)

4.2 Obtenção das abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada com idade desconhecida (não-marcadas)

No mesmo dia da coleta das abelhas campeiras marcadas (4.1), foram coletadas as abelhas campeiras com idade desconhecida (não-marcadas). Para garantir que fossem campeiras, foram coletadas apenas as abelhas que carregavam pólen nas corbículas (Figura 7A). As coletas foram realizadas na entrada das colmeias (Figura 7B) e também no seu interior. As abelhas foram capturadas em gaiolas de PVC desinfectadas, posteriormente, estas foram cobertas com tecido *voile* e transportadas ao LABCON e então mantidas em câmara climatizada, tipo B.O.D. (30

$\pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$) até a montagem de cada bioensaio (não mais que 12 horas). (Apêndice A).

Fotografia 6A - Abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada com idade desconhecida (não-marcadas) contendo pólen na corbícula. **B -** Coleta das abelhas campeiras idade conhecida (marcadas) e idade desconhecida (não-marcadas) realizada no apiário da Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE- Apicultura), localizado na fazenda experimental da UTFPR-DV



Fonte: Autoria própria (2022)

4.3 Obtenção dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogestemon cablin*

Os óleos essenciais foram obtidos da empresa Garden City de São Paulo-SP. Os óleos essenciais utilizados, foram oriundos de duas espécies de plantas, *E. uniflora* (pitanga) e *P. cablin* (patchouli). Estas foram selecionados por apresentarem potencial inseticida sobre *Sitophilus zeamais* Mots, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae), *A. laevigatta*, *Diaphania hyalinata* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Crambidae), *Alphitobius diaperinus* Panzer, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), *C. includens*, *T. peregrinus*, *Choristoneura rosaceana* Harris, 1841 (Lepidoptera: Tortricidae), *C. melanoticus*, *C. novograndensis* e *D. thoracicus*, *Spodoptera exigua* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae), cupins dos gêneros *Amitermes* e *Microcerotermes* (Tabela 3).

Tabela 3 - Nome científico da planta, família, nome popular, partes das plantas utilizadas para obtenção dos óleos essenciais e literatura sobre o potencial inseticida

Nome científico	Família	Nome popular	Partes utilizadas	Literatura
<i>Eugenia uniflora</i>	Myrtaceae	Pitangueira	Folha	ALTOE, 2016; COLOMBO, 2019; CUNHA <i>et al.</i> , 2015; JUNG <i>et al.</i> , 2013; LOBO <i>et al.</i> , 2019; MAZARO <i>et al.</i> , 2008; MATA, 2015; MACIEL, 2015; OLIVEIRA, 2017; OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2022; SAITO; LUCCHINI, 1998; STASIAK, 2018, STENGER <i>et al.</i> , 2021; PEGORINI, 2016; ROEL 2001.
<i>Pogostemon cablin</i>	Lamiaceae	Patchouli	Folha	ALBUQUERQUE <i>et al.</i> , 2013; BACCI <i>et al.</i> , 2015; VAN BEEK; JOULAIN, 2018; GAAL <i>et al.</i> , 2018; MACHIAL <i>et al.</i> , 2010; MESEGUER <i>et al.</i> , 2018; RAMYA; PALANIMUTHU; RACHNA, 2013; COLOMBO, 2019; PINHEIROS; POTRICH; COLOMBO, 2018.

Fonte: Autoria própria (2022)

4.4 Avaliação dos óleos essenciais sobre as abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada, com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas), em condições de laboratório

Para todos os bioensaios (1, 2 e 3) o controle foi composto de água destilada esterilizada + Tween 80[®] (0,01%) e os tratamentos com óleos essenciais foram preparados na concentração de 0,75% (750 µL de óleo essencial em 100 mL de água destilada esterilizada - concentração utilizada por COLOMBO, 2019). Todos os bioensaios foram repetidos, por três vezes, conforme protocolo das diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1998). Os bioensaios com abelhas de idade conhecida e idade desconhecida foram realizados paralelamente, sempre, nas mesmas datas, evitando interações não controladas.

4.4.1 Bioensaio 1: Toxicidade dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin* em abelhas *Apis mellifera* africanizada com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas), após contato direto em superfície vítrea

Foram pulverizados, 290 μL dos tratamentos *E. uniflora* e *P. cablin* (volume baseado na área da placa na qual a solução foi pulverizada em relação ao volume de calda por hectare) em placas de Petri de vidro esterilizadas (1,5 cm de altura \times 15 cm de \varnothing). Para a pulverização, utilizou-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma[®] acoplado a uma bomba Tecnal[®] (TE-058) de pressão constante (1,2 kgf.cm^{-1}). Posteriormente, essas placas foram dispostas em câmara de fluxo unidirecional laminar (VECO) (Figura 8) para a evaporação completa da água, em seguida, as placas foram montadas de forma que houvesse fluxo de ar, metodologia adaptada de Carvalho *et al.* (2009).

Fotografia 7 - Placas de Petri pulverizadas com a sobreção dos tratamentos (*Eugenia uniflora* e *Pogestemon cablin*) dispostas em câmara de fluxo unidirecional laminar (VECO) para evaporação completa da água

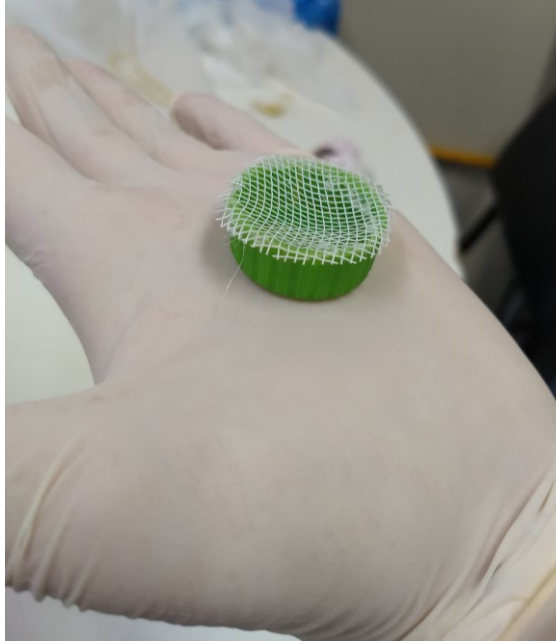


Fonte: Autoria própria (2022)

Dez operárias de *A. mellifera*, previamente anestesiadas com CO_2 por até 120 segundos, foram inseridas no interior dessas placas. Após duas horas de contato com as placas tratadas, as abelhas foram transferidas, em grupos de 10 indivíduos, para gaiolas de PVC (20 cm de altura \times 15 cm de \varnothing). Estas gaiolas foram então cobertas com tecido *voile*. A dieta (água e açúcar) foi oferecida em recipiente plástico (1,0 \times 2,5 cm - altura \times diâmetro), com capacidade para 2 mL, cobertos com tela anti-afídica

(Figura 9) e fixados na parte interna de cada gaiola metodologia adaptada Paloschi (2021).

Fotografia 8 - Recipiente plástico (1,0 × 2,5 cm - altura × diâmetro), com capacidade para 2 mL contendo dieta para *Apis mellifera*, cobertos com tela anti-afídica



Fonte: A autoria própria (2022)

As gaiolas de PVC contendo as operárias foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$). Cada gaiola contendo 10 operárias foi considerada uma repetição, sendo o total de cinco repetições por tratamento, com 10 abelhas por repetição. A mortalidade das operárias foi avaliada a partir de duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas após a pulverização dos tratamentos, realizando a contagem dos insetos mortos (metodologia adaptada de Baptista et al., 2009). As abelhas foram consideradas mortas quando não apresentava reação após serem tocadas com pinça entomológica Bioquip® (POTRICH et al., 2020). Este procedimento foi realizado tanto para abelhas campeiras com idade conhecida quanto para abelhas campeiras com idade desconhecida.

4.4.2 Bioensaio 2: Ação dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin* pulverizados sobre abelhas campeiras de *Apis mellifera* africanizada com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas)

Campeiras de *A. mellifera* foram anestesiadas com CO₂ por até 120 segundos, e separadas em grupos de dez indivíduos por placa de Petri esterilizadas (1,5 cm de altura × 15 cm de Ø) (Figura 10A). Sobre as abelhas *A. mellifera*, alocadas nas placas de Petri (1,5 cm de altura × 15 cm de Ø), pulverizou-se 290 µL da solução dos óleos essenciais (*E. uniflora* e *P. cablin*) (volume baseado na área da placa em relação ao volume de calda por hectare). Para o grupo controle pulverizou-se água destilada esterilizada (metodologia adaptada de Colombo *et al.*, 2019). Para a pulverização, utilizou-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma® acoplado a uma bomba Tecnal® (TE-058) de pressão constante (1,2 kgf.cm⁻¹) (metodologia adaptada de Colombo, 2019).

Após a pulverização, as abelhas foram transferidas para gaiolas de PVC com (20 cm de altura × 15 cm de Ø), sendo cada recipiente considerado uma repetição, totalizando cinco repetições por tratamento. A dieta (água e açúcar) foi oferecida em recipiente plástico (1,0 cm de altura × 2,5 cm de Ø), com capacidade para 2 mL, cobertos com tela anti-afídica (Figura 10B) e fixados na parte interna de cada gaiola metodologia adaptada Paloschi (2021). Procedimento realizado com abelhas de idade desconhecida e também realizado para abelhas com idade conhecida.

Fotografia 9A - Pulverização dos tratamentos com *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin* sobre operárias forrageiras *Apis mellifera* com idade conhecida (marcadas) e idade desconhecida (não-marcadas). B - A dieta nos recipientes plásticos (2,5 cm de Ø × 1,0 cm de altura), com capacidade para 2 ml, cobertos com tela anti-afídica



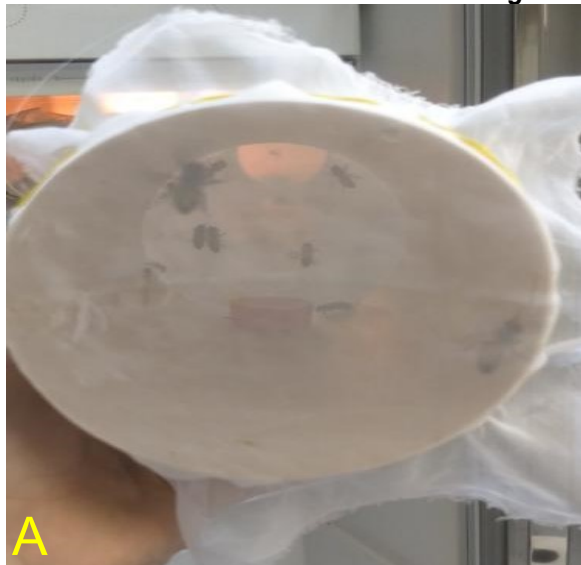
Fonte: Autoria própria (2022)

4.4.3 Bioensaio 3: Ação dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*, por ingestão, em abelhas campeiras de *Apis mellifera* africanizada, com idade conhecida (marcadas) e desconhecida (não-marcadas)

As abelhas marcadas e não-marcadas foram anestesiadas por até 120 segundos e transferidas para gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de Ø) identificadas e desinfetadas, sendo posteriormente, as gaiolas cobertas com *voile* (Figura 11A). Cada gaiola, contendo 10 operárias, foi considerada uma repetição, totalizando cinco repetições por tratamento. Antes de fornecer o alimento, as operárias permaneceram 2 horas em jejum em sala climatizada (metodologia adaptada de Soares *et al.*, 2009).

A dieta (água, açúcar e o óleo essencial) foi oferecida em recipientes plásticos (2,5 cm de Ø × 1,0 cm de altura), com capacidade para 2 mL, cobertos com tela anti-afídica (Figura 11B), acondicionados na parte interna de cada gaiola. Os tratamentos consistiram dos óleos essenciais *E. uniflora* e *P. cablin* na concentração de 0,75% (750 µL de óleo essencial em 100 mL de água destilada esterilizada), controle foi composto por água destilada esterilizada + Tween 80® (0,01%).

Fotografia 10A - Gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de Ø) cobertas com tecido *voile*, contendo 10 abelhas campeiras e recipiente com a dieta. B - As gaiolas de PVC sendo inseridas em câmara climatizada do tipo B.O.D (30 ± 2°C, U.R. de 70 ± 10%) C - Gaiolas de PVC contendo as abelhas marcadas e não-marcadas em B.O.D (30 ± 2°C, U.R. de 70 ± 10%). D - Contagem de abelhas mortas, após a aplicação dos tratamentos *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*



(Continua)



Fonte: Autoria própria (2022)

A dieta foi fornecida 2 horas após o jejum e permaneceu na gaiola por 2 horas. Em seguida foi realizada a troca do recipiente para outra dieta com os tratamentos, o mesmo procedimento foi realizado para as abelhas do grupo controle, conforme recomendação da OECD (1998). As unidades experimentais foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$) (Figura 11C).

A mortalidade foi registrada (Figura 11D) duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas após a ingestão de cada tratamento, realizando a contagem dos insetos mortos. Considerou-se as abelhas mortas quando tocadas com pinça entomológica Bioquip® e estas não apresentaram resposta aos estímulos.

4.4.4 Bioensaio 4: Análise de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) de abelhas campeiras *Apis mellifera* com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas), após pulverização dos tratamentos

As abelhas foram pulverizadas com os óleos essenciais, como descrito no bioensaio 2. Após 24 horas da pulverização, foram selecionadas, aleatoriamente, dez abelhas para a análise de voo (deslocamento vertical) e outras dez abelhas foram submetidas ao teste de retomada de voo (queda livre). Esse bioensaio foi realizado em sala sem iluminação natural, e utilizando uma torre de voo (35 cm × 35 cm de largura e 105 cm de altura). Esta torre foi confeccionada em madeira, contendo uma fonte luminosa no topo e no interior um instrumento de medição para mensurar a altura em centímetros (Figura 12A e B).

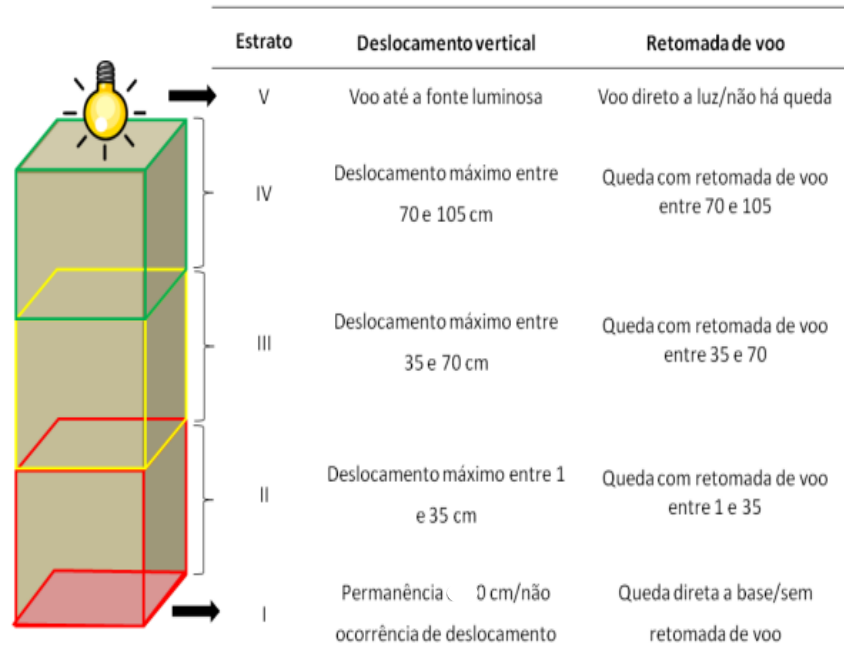
Fotografia 11A - Abelhas campeiras com idade conhecida (marcadas) e com idade desconhecida (não-marcadas) submetidas a análises da capacidade de voo e de retomada ao voo. B - Abelha *Apis mellifera* foi liberada do topo da torre e conseguiu retomar o voo em direção a fonte luminosa



Fonte: Autoria própria (2022)

Para análise de deslocamento vertical as abelhas foram liberadas, individualmente, na base inferior da torre, e seu deslocamento foi avaliado por um minuto, marcando o estrato máximo atingido. Posteriormente, as abelhas foram descartadas. A partir da marcação das medidas, foi possível classificar cinco estratos I, II, III, IV e V. O nível I significa que a abelha permaneceu na base da torre. O nível II corresponde ao deslocamento abelhas de 0 até 35 cm de altura. O nível III representa o deslocamento entre 35 a 70 cm de altura. O nível IV, corresponde ao deslocamento entre 70 e 105 cm de altura e o nível V representa o deslocamento até a fonte de luz, a 120 cm de altura (Figura 13).

Figura 2 - Ilustração da torre de voo e classificação dos estratos de acordo com o comportamento das abelhas nos testes de queda e voo



Fonte: Sampaio (2020)

Para a análise de retomada de voo (queda livre) as abelhas, uma a uma, foram liberadas da base superior da torre (Figura 12A), e com um toque realizado com pinça Bioquip® as abelhas foram estimuladas a sair dessa base. Verificou-se assim em qual dos estratos a abelha conseguiu retomar o voo ou se houve queda até o estrato I, metodologia baseada em Tomé *et al.* (2015) e Libardoni *et al.* (2021).

Para a retomada de voo foi classificado em cinco estratos I, II, III, IV e V (Figura: 13). O nível I determina que a abelha caiu direto na base da torre, não ocorrendo voo. O nível II refere-se as abelhas que retomaram o voo entre 0 a 35 cm de altura, referência à base inferior da torre. O nível III representa que as abelhas retomaram voo entre 35 e 70 cm. O nível IV refere-se a retomada do voo entre 70 e 105 cm de altura e o nível V corresponde ao voo direto para fonte luminosa, ou seja, não houve a queda (Figura 12B).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os dados de longevidade das operárias de *A. mellifera*, foram realizadas análise de sobrevivência usando o modelo de Cox. O modelo avalia simultaneamente o efeito de vários fatores na sobrevivência, isto é, são testados como fatores de outras determinações, uma taxa de ocorrência determinada (por morte), evento determinado em um determinado momento. Essa taxa é comumente chamada de taxa de risco. As variáveis preditoras (ou fatores) são geralmente de análises covariáveis na literatura de sobrevivência.

Como as abelhas estão agrupadas em gaiolas, é possível que existam efeitos de gaiola na mortalidade das abelhas. Desta forma, avaliou-se o efeito de “gaiola” no modelo. Para isso foi ajustado dois modelos, sendo um efeito “misto” que inclui o efeito aleatório de gaiola e outro de efeito “fixo” que não inclui o efeito de gaiola. Os modelos foram comparados através de um teste de razão de verossimilhanças.

Os tratamentos foram comparados usando o teste de log-rank e a análise completa foi realizada utilizando o pacote de sobrevivência (THERNEAU, 2015) do software R usando a função `survdiff`. O teste é também chamado de teste de Mantel–Cox.

Para o bioensaio de capacidade de voo foram utilizados Modelos Lineares Generalizados, regressão ordinal, através do teste de Wald (Qui-quadrado), utilizando-se o software R, pacote ordinal.

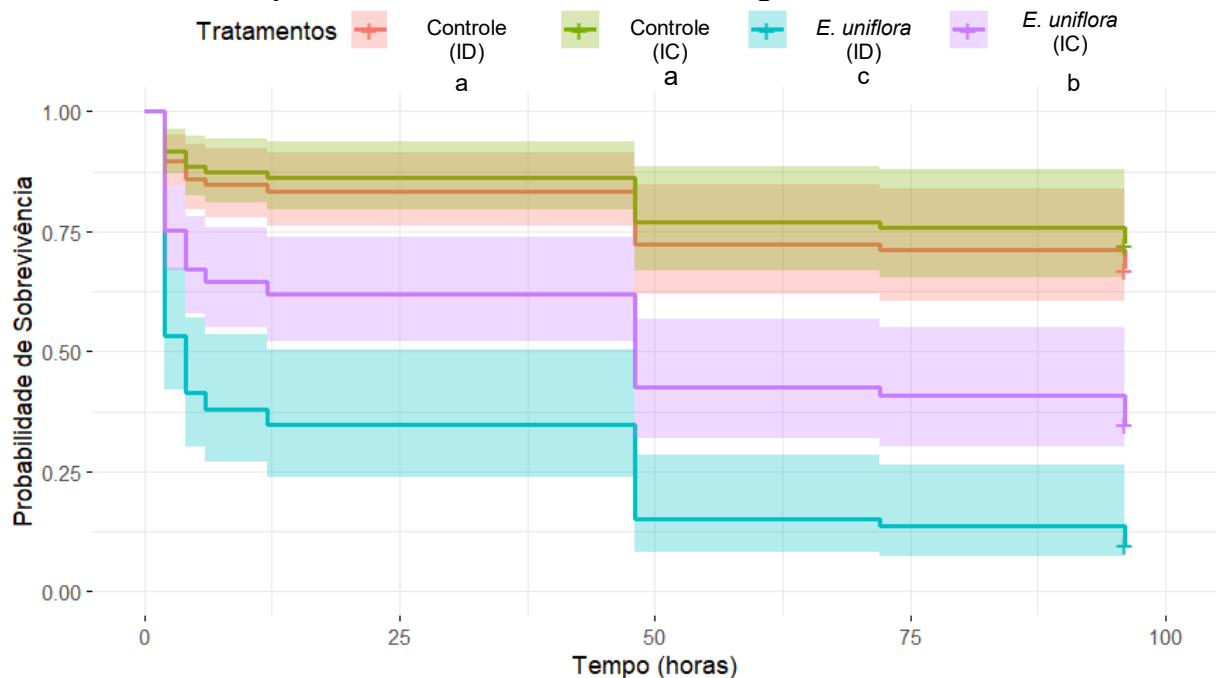
Para as análises, foi verificada a homogeneidade e / ou normalidade dos dados pelo teste de Shapiro Wilk. Os dados que não apresentaram normalidade, foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e teste de Nemenyi (NEMENYI, 1963), utilizando o pacote PMCMR (POHLERT, 2014) do software R (R CORE TEAM, 2019).

6 RESULTADOS

6.1 Toxicidade dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogestemon cablin* em *Apis mellifera*, após contanto direto em superfície vítrea

O óleo essencial de pitangueira *E. uniflora* reduziu a longevidade das abelhas com IC e ID, após o contato destas com superfície vítrea tratada, comparando com as abelhas oriundas do grupo controle. Considerando 12 horas após o contanto das abelhas com superfície vítrea tratada, verificou-se que a probabilidade de sobrevivência de abelhas com IC e que entraram em contanto com o óleo essencial de *E. uniflora* é de 63%, diferindo da probabilidade de sobrevivência das abelhas com ID, que também entraram em contanto com este mesmo óleo essencial, que é de 35%. Essas probabilidades são inferiores e diferem do verificado nas abelhas oriundas dos respectivos controles, com IC (86%) e com ID (84%) (Figura 14).

Gráfico 1 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* com idade conhecida e idade desconhecida, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após contato em superfície vítrea com o tratamento de *Eugenia uniflora*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72; 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

IC: idade conhecida.

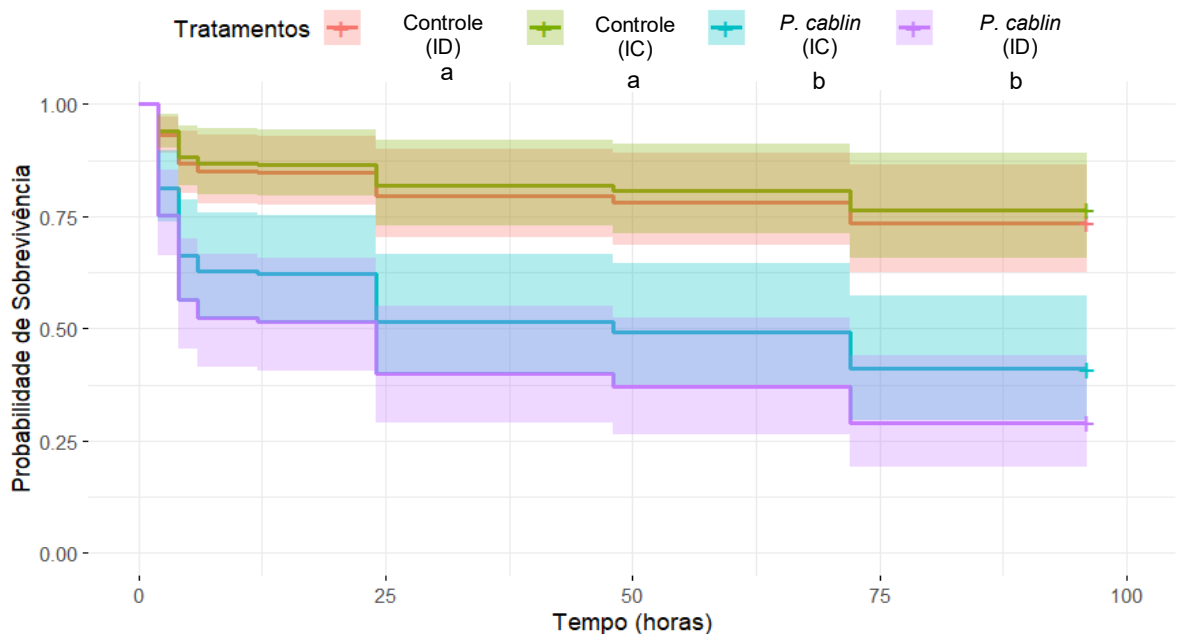
ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

O óleo essencial de patchouli *P. cablin* causou redução na probabilidade de sobrevivência das operárias de *A. mellifera* com IC e ID. Em 12 horas após o contato

com superfície tratada com óleo essencial, a probabilidade de sobrevivência das abelhas com IC foi de 62% e das abelhas com ID foi de 52%, não diferindo entre si. Enquanto as abelhas oriundas do grupo controle apresentam 87% e 86% de probabilidade de sobrevivência para IC e ID, respectivamente, diferindo significativamente do tratamento com o óleo essencial (Figura 15).

Gráfico 2 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* com IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após contato em superfície vítrea com o tratamento de *Pogostemon cablin*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

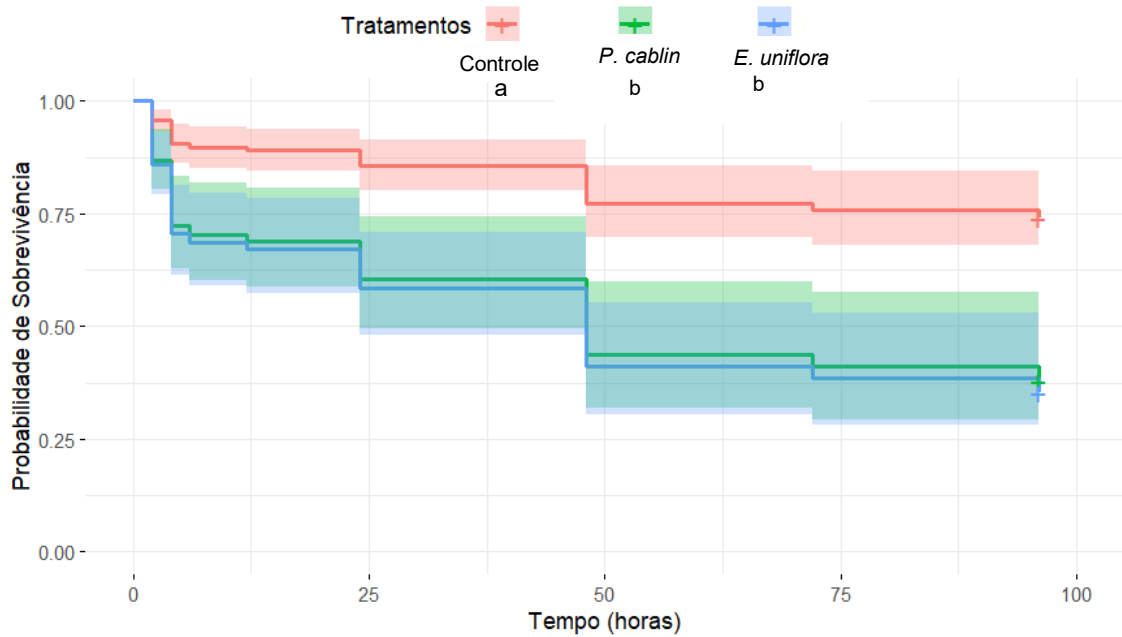
IC: idade conhecida.

ID: idade desconhecida.

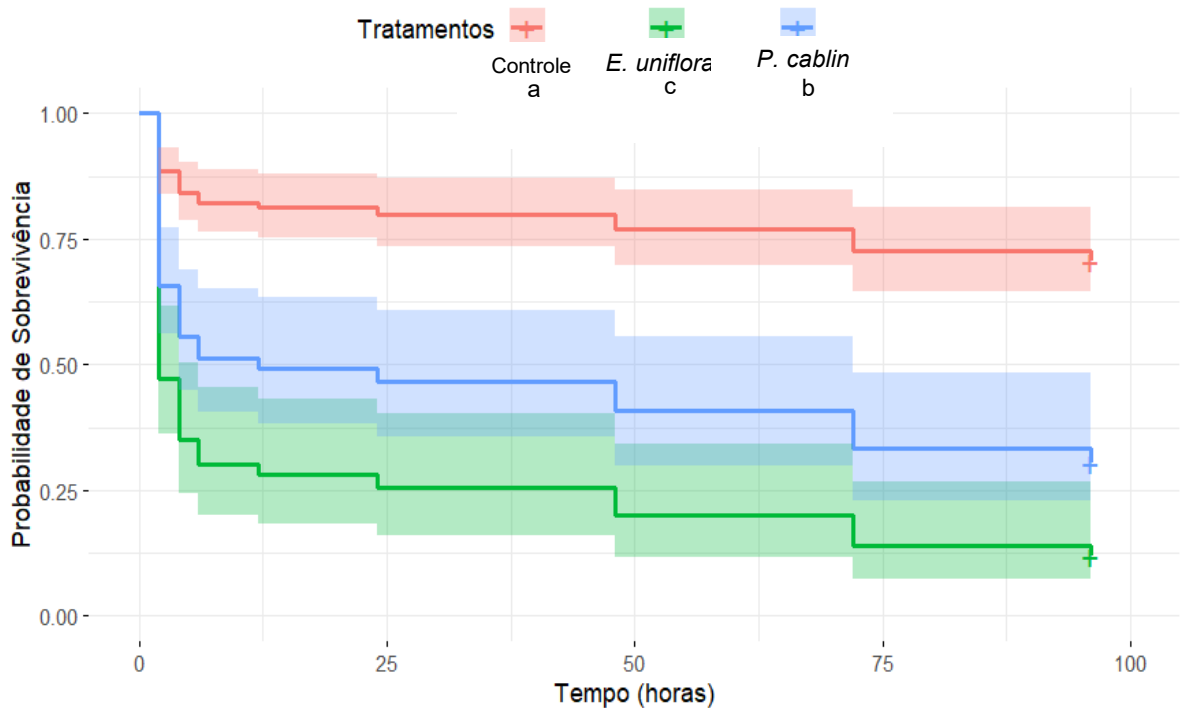
Fonte: Autoria própria (2022)

Isolando o fator idade, quando comparada a probabilidade de sobrevivência das abelhas *A. mellifera* com IC, verificou-se que ambos os óleos essenciais (*E. uniflora* e *P. cablin*) reduziram a probabilidade de sobrevivência de *A. mellifera*, os quais não diferiram entre si, mas diferiram dos respectivos grupos controle (Figura 16A). A redução na probabilidade de sobrevivência causada por esses óleos essenciais também foi observada para abelhas *A. mellifera* com ID (Figura 16B).

Gráfico 3A - Comparativo da probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera*. A - com IC e B - ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após contato em superfície vítrea com os tratamentos de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*



A



B

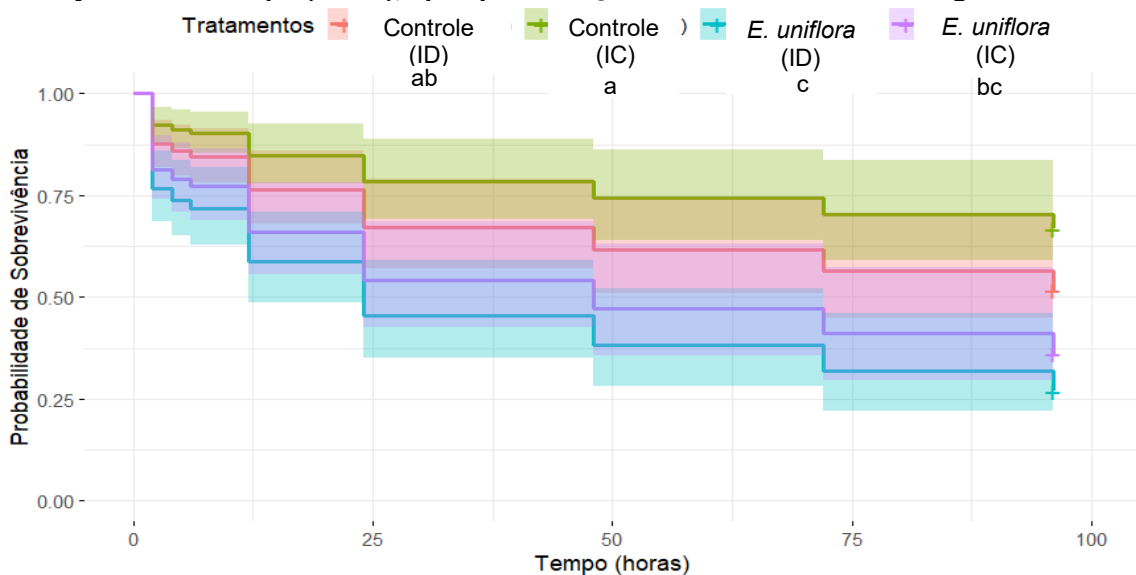
Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72; 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2022)

6.2 Óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin* pulverizados sobre *Apis mellifera* com idade conhecida e com idade desconhecida

Em 12 horas após a pulverização do óleo essencial de *E. uniflora*, sobre operárias de *A. mellifera*, a probabilidade de sobrevivência destas abelhas com IC foi de 69% e 61% para as abelhas com ID. Enquanto, as abelhas oriundas do grupo controle apresentaram probabilidade de sobrevivência de 85% para a abelha com IC e 77% para as abelhas com ID (Figura 17).

Gráfico 4 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após pulverização com o tratamento de *Eugenia uniflora*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72; 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

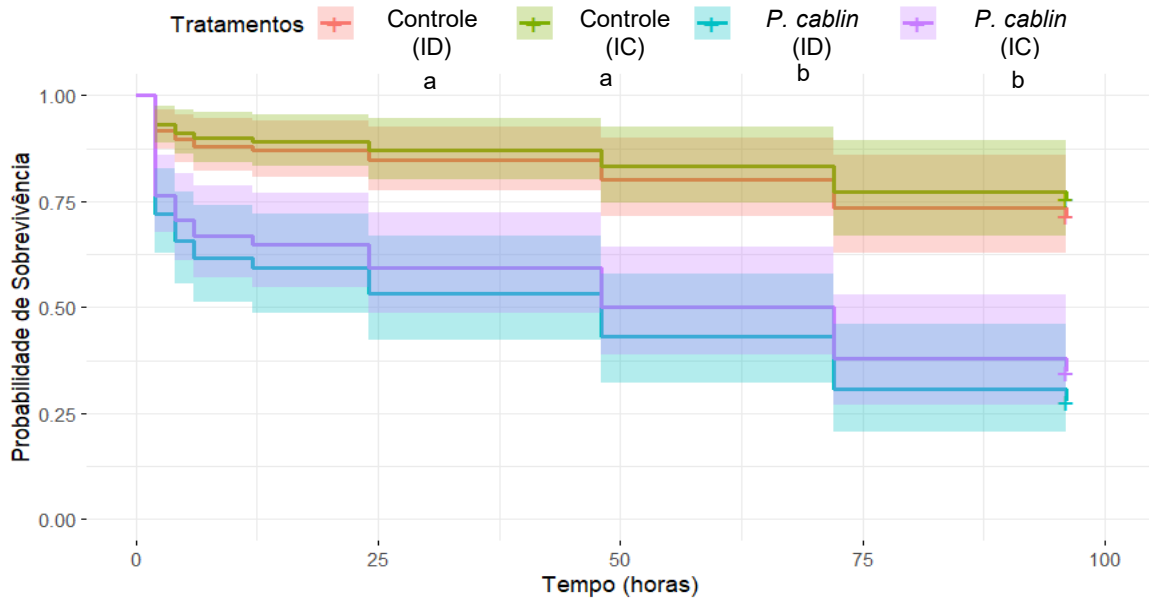
IC: idade conhecida.

ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

A pulverização do óleo essencial de *P. cablin* sobre abelhas com IC e ID reduziu a probabilidade de sobrevivência destas. Verificou-se, depois de 12 horas, 69% de probabilidade das abelhas com IC e 64% de probabilidade das abelhas com ID estarem vivas. Enquanto as abelhas oriundas do controle diferiram consideravelmente das abelhas expostas ao óleo essencial de patchouli, com probabilidade de sobrevivência de 89% para as abelhas com IC e 87% para as abelhas com ID (Figura 18).

Gráfico 5 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após pulverização com o tratamento de *Pogostemon cablin*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

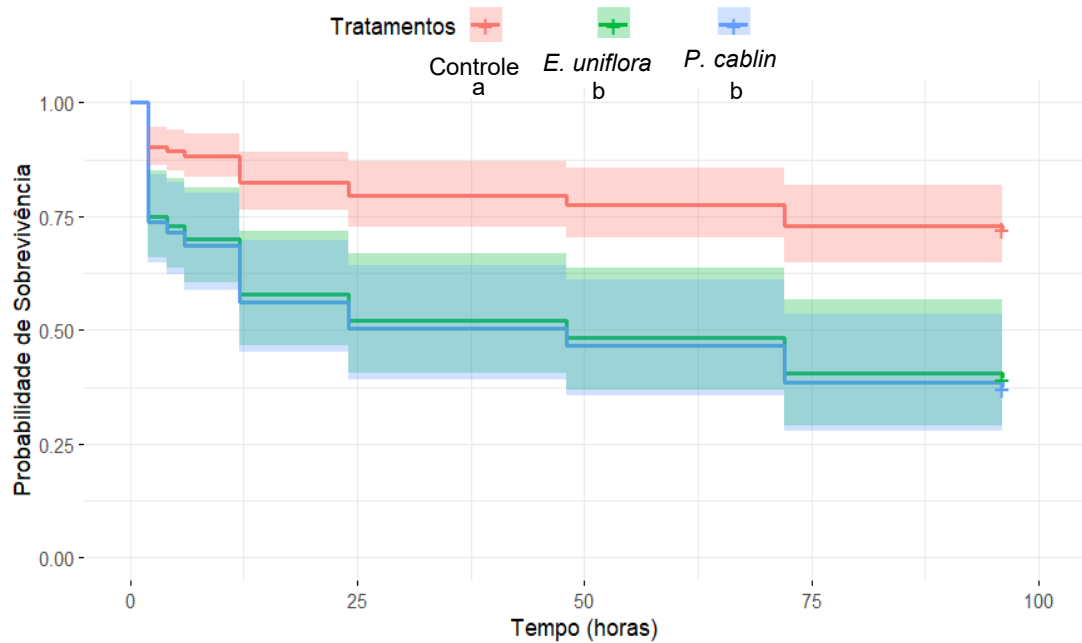
IC: idade conhecida.

ID: idade desconhecida.

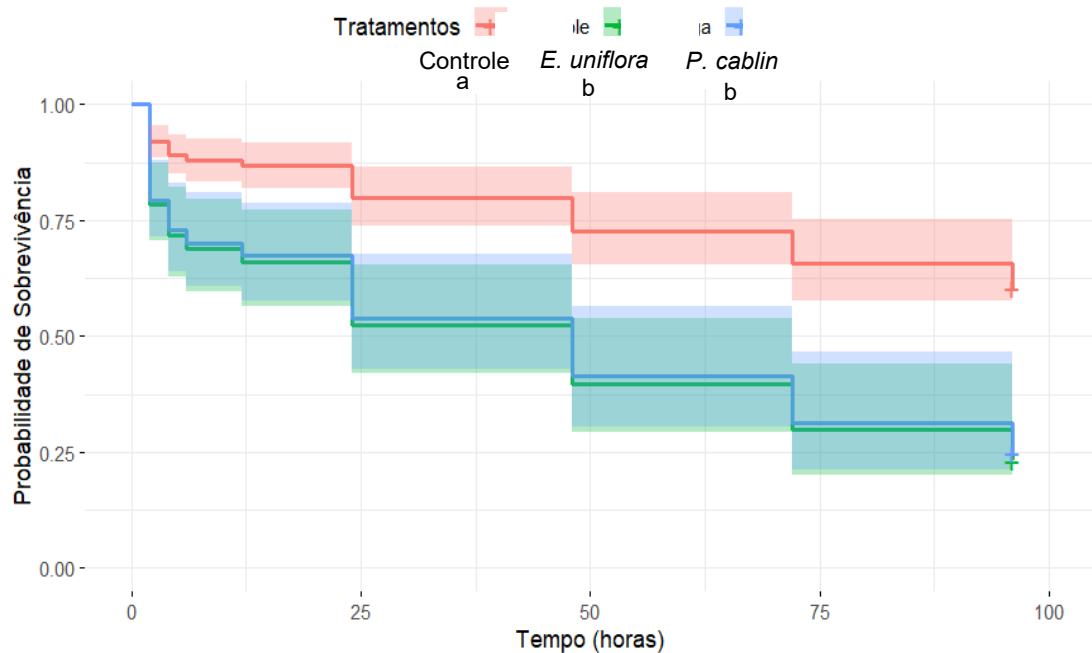
Fonte: Autoria própria (2022)

Ao comparar apenas as abelhas *A. mellifera* com IC, após a pulverização dos óleos essenciais de *P. cablin* e *E. uniflora* diretamente sobre elas, verificou-se que ambos os óleos reduziram a probabilidade de sobrevivência. As abelhas com IC pulverizadas com os dois tipos de óleos essenciais não diferiram entre si, quanto a probabilidade de sobrevivência, porém diferiram significativamente das abelhas do grupo controle, as quais apresentaram maior probabilidade de sobrevivência desde as 4 horas, após serem pulverizadas, até o fim do bioensaio (Figura 19A). O mesmo foi observado para as operárias de *A. mellifera* com ID e que foram submetidas aos mesmos tratamentos (Figura 19B).

Gráfico 6A - Comparativo da probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após pulverização com os tratamentos de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*



A



B

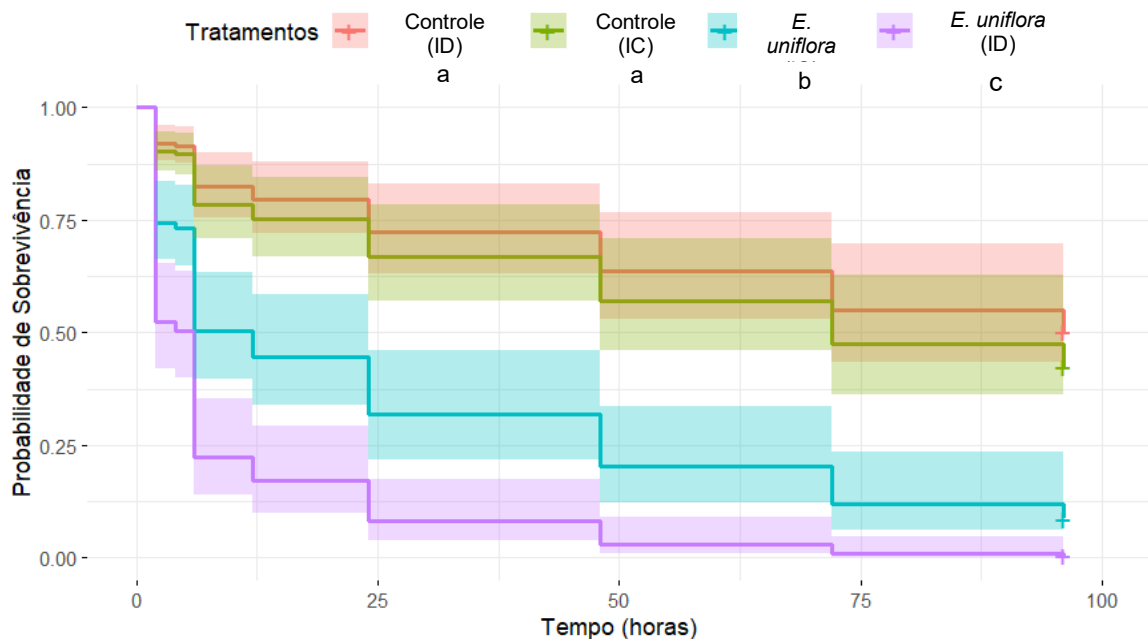
Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2022)

6.3 Efeito dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* e *Pogostemon cablin*, por ingestão, sobre *Apis mellifera*

As abelhas *A. mellifera* com IC e ID que ingeriram o alimento incorporado com o óleo essencial de *E. uniflora* tiveram redução na sobrevivência. No tempo de 12 horas verificou-se que a probabilidade de sobrevivência de abelhas com IC que ingeriram alimento contendo o óleo essencial de *E. uniflora* foi de 39% e as abelhas com ID foi de 18%. As abelhas oriundas do grupo controle apresentaram 75% e 78% de probabilidade de sobrevivência para abelhas com IC e ID, respectivamente (Figura 20).

Gráfico 7 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após ingestão com o tratamento de *Eugenia uniflora*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

IC: idade conhecida.

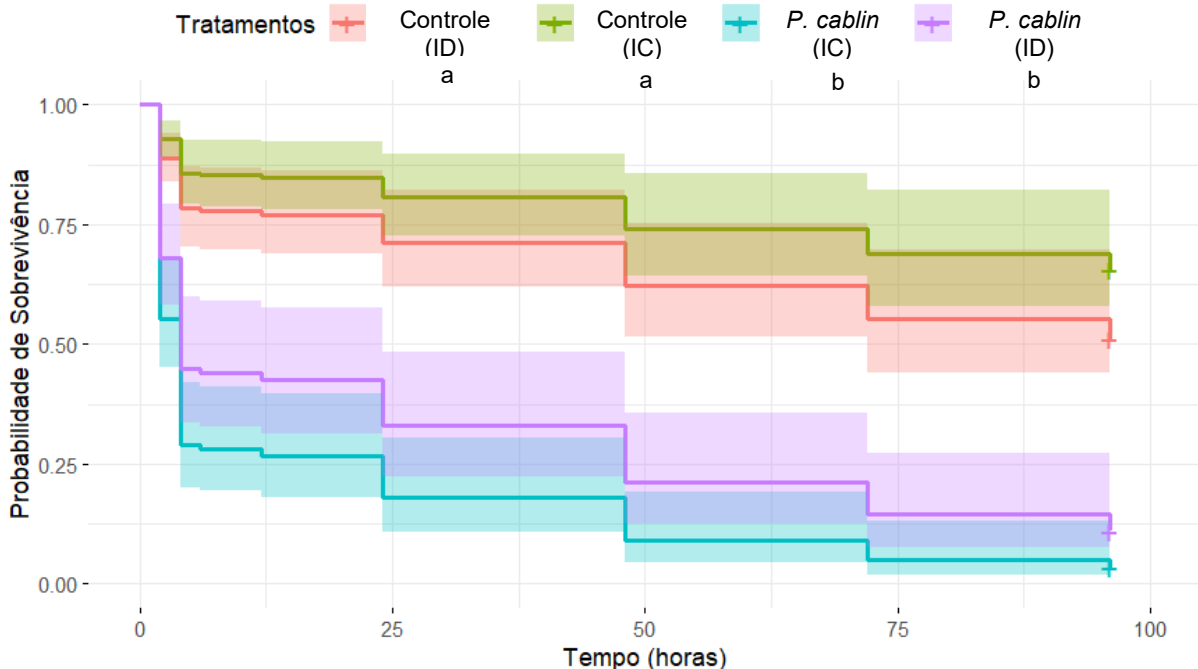
ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

Considerando o óleo essencial de *P. cablin*, verificou-se que as abelhas *A. mellifera* que ingeriram o alimento contendo este óleo, apresentaram redução na probabilidade de sobrevivência, independente de serem de IC ou ID. A probabilidade de sobrevivência das abelhas com IC foi de 26% e das abelhas com ID, que também ingeriram o alimento incorporado com o óleo essencial, foi de 32%. Em contraste, as

oriundas do grupo controle apresenta 77% e 82% de probabilidade de sobrevivência para IC e ID, respectivamente (Figura 21).

Gráfico 8 - Probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera* de IC e ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após ingestão com o tratamento de *Pogostemon cablin*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72; 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

IC: idade conhecida.

ID: idade desconhecida.

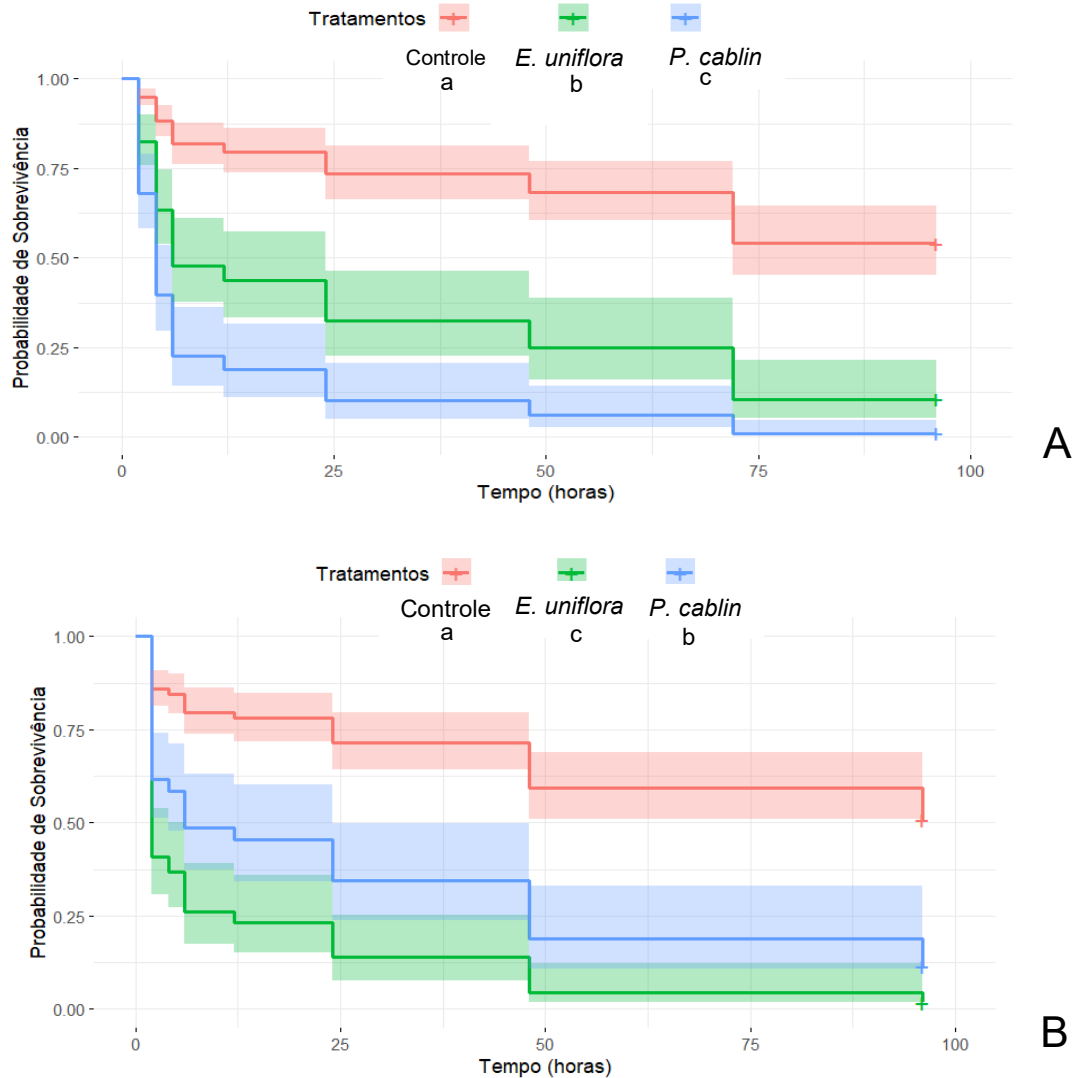
Fonte: Autoria própria (2022)

Considerando a sobrevivência apenas das abelhas *A. mellifera* com IC após se alimentarem das dietas contendo os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin*, verificou-se que estas apresentaram redução na probabilidade de sobrevivência. Verificou-se que o óleo essencial de *P. cablin* provocou a maior redução na sobrevivência de *A. mellifera*, diferindo, inclusive do óleo essencial de *E. uniflora*. Porém, as abelhas que se alimentaram do óleo essencial de pitangueira também apresentaram redução na sobrevivência quando comparado as abelhas do grupo controle (Figura 22A).

As abelhas com ID ao se alimentarem da dieta contendo os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin*, apresentaram redução na probabilidade de sobrevivência. A maior redução na probabilidade de sobrevivência ocorreu quando as abelhas se alimentaram com a dieta contendo o óleo essencial de *E. uniflora*, diferindo do óleo essencial de *P. cablin*. Entretanto, o óleo essencial de *P. cablin* também provocou

redução na probabilidade de sobrevivência de *A. mellifera* ao comparar com as abelhas do controle (Figura 22B).

Gráfico 9A - Comparativo da probabilidade de sobrevivência de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID, por modelo de Cox ajustado ao tempo (horas), após ingestão com os tratamentos de *Eugenia uniflora* e *Pogestemon cablin*



Avaliação realizada duas, quatro; seis; oito; 12; 24; 48; 72, 96, 120 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

IC: idade conhecida.

ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

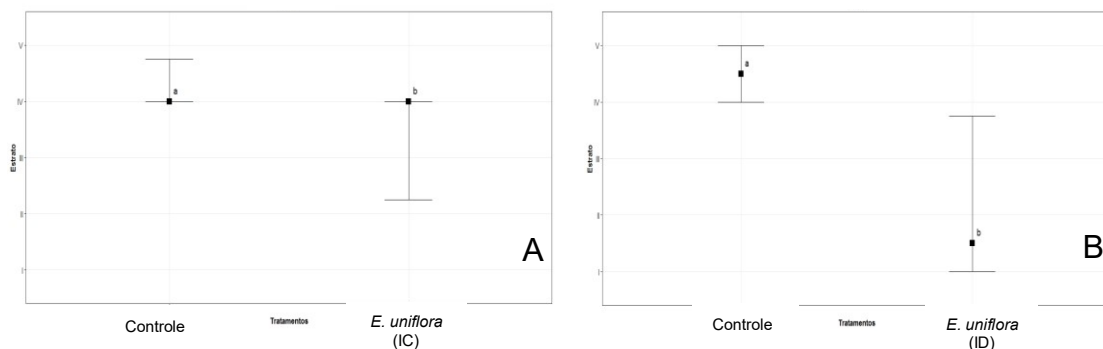
6.4 Análise de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) de abelhas campeiras *Apis mellifera*

6.4.1 Deslocamento vertical

As abelhas com IC, quando em contato com o óleo essencial de *E. uniflora*, tiveram o deslocamento afetado, apesar de conseguir realizar o deslocamento verticalmente na torre. Se deslocaram entre o estrato II (1 e 35 cm) e IV, predominando o estrato IV. As abelhas do grupo controle apresentaram o deslocamento entre os estratos IV (70 e 105 cm) e V, predominando o estrato IV (Figura 23A).

As abelhas com ID expostas ao tratamento com óleo essencial de *E. uniflora* também tiveram o deslocamento vertical reduzido. Estas abelhas se deslocaram, na média (quadrado preto no centro da linha) entre o estrato I e II, sendo a variação até o estrato IV, isto é, de 0 até 105 cm, predominando o estrato II. Enquanto as abelhas do grupo controle se deslocavam entre o estrato IV e V, de 105 até 120 cm de altura (Figura 23B).

Gráfico 10 - Efeito do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre o deslocamento vertical de abelhas *Apis mellifera* A - Com IC e B - ID



IC: idade conhecida.

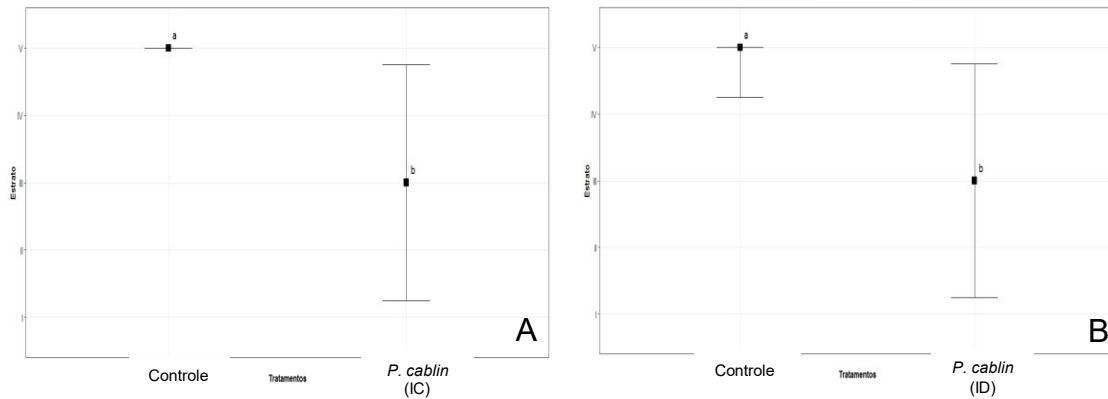
ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

As abelhas com IC quando em contato com óleo essencial de *P. cablin* tiveram o deslocamento afetado. O deslocamento variou entre o estrato I e V, de 0 até 120 cm, com média no estrato III de 35 até 70 cm. Comparando com as abelhas oriundas do grupo controle, as quais se deslocaram até a fonte luminosa, estrato V (Figura 24A)

As abelhas com ID também apresentaram redução no deslocamento variando entre o estrato I e V (0 e 120cm), com média no estrato III (0 a 35 cm). Já as abelhas do grupo controle se deslocaram entre o estrato IV e V (70 a 120 cm), predominando o voo para a fonte luminosa, estrato V (Figura 24B).

Gráfico 11 - Efeito do óleo essencial de *Pogostemon cablin* sobre o deslocamento vertical de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID.



IC: idade conhecida.
ID: idade desconhecida.

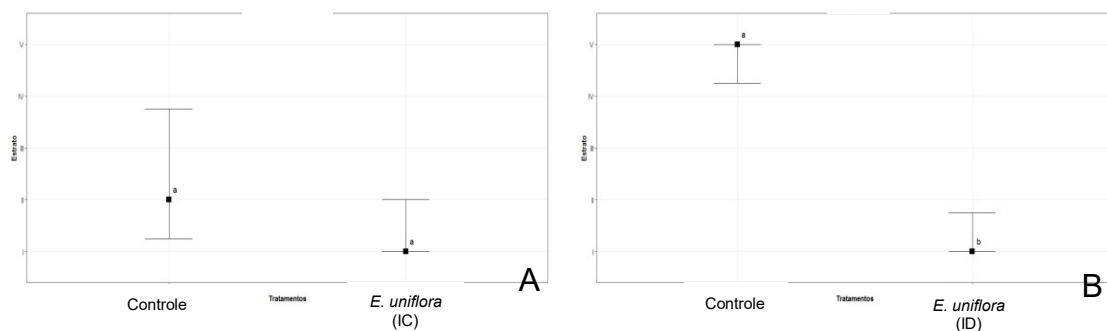
Fonte: Autoria própria (2022)

6.4.2 Retomada de voo

As abelhas com IC, expostas ao óleo essencial de *E. uniflora*, retomaram o voo, em média, no estrato I, ocorrendo a queda de várias abelhas direto a base, ou seja, sem conseguir voar. Entretanto não houve diferença com as abelhas do grupo controle (Figura 25A).

As abelhas com ID, exposta ao óleo essencial de *E. uniflora*, sofreram interferência negativa, as quais permaneceram entre o estrato I e II (0 e 35 cm) a maioria não conseguindo retomar o voo. Enquanto as abelhas do grupo controle retornaram o voo rapidamente, as quais predominaram no estrato V (120 cm), isto é, voaram direto para a fonte de luz (Figura 25B).

Gráfico 12 - Efeito do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre a retomada de voo de abelhas *Apis mellifera*. A - Com IC e B - ID.



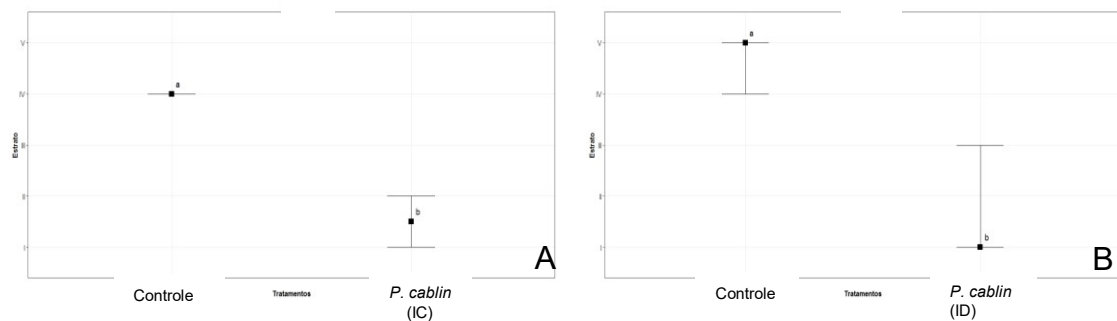
IC: idade conhecida.
ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

A retomada de voo das abelhas *A. mellifera* com IC e ID expostas ao óleo essencial de *P. cablin* foram afetadas, quando comparado aos respectivos grupos controle. As abelhas com IC ao serem estimuladas ao voo, retomaram o voo, em média, nos estratos I e II (0 até 35 cm), já as abelhas do grupo controle retomaram o voo, no estrato IV (70 e 105 cm (Figura 26A).

As abelhas com ID também apresentaram dificuldade na retomada de voo quando expostas ao óleo essencial de *P. cablin*. Essas abelhas retomaram o voo entre os estratos I e III (0 até 70 cm) permanecendo, em média, no estrato I. já as abelhas do grupo controle retomaram o voo entre os estratos IV e V (105 até 120 cm), predominando no estrato V, voando direto à luz (Figura 26B).

Gráfico 13 - Efeito do óleo essencial de *Pogostemon cablin* sobre a retomada de voo de abelhas *Apis mellifera*. A – Com IC e B - ID.



IC: idade conhecida.
ID: idade desconhecida.

Fonte: Autoria própria (2022)

7 DISCUSSÃO

O contato de abelhas *A. mellifera* africanizada com superfície tratada com os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* causou redução na probabilidade de sobrevivência, tanto em abelhas com IC quanto em abelhas com ID. Essa redução demonstra o potencial tóxico desses óleos essenciais também a insetos não-alvos.

As abelhas campeiras, durante o processo de forrageamento, podem se contaminar com produtos que já estão presentes no ambiente, produtos estes que podem ter sido aplicados em culturas no campo. O produto contaminante, estando presente sobre as plantas acabam por contaminar pólen e néctar (APARICIO-MURIANA *et al.*, 2020), o mel (MITCHELL *et al.*, 2017), a cera (WILMART *et al.*, 2021), a geleia alimentar de larvas (WUEPPENHORST *et al.*, 2022), consequentemente prejudicando o desenvolvimento das abelhas operárias (TOMÉ *et al.*, 2020).

Nesse sentido, os óleos essenciais podem ser prejudiciais as abelhas, quando estas entram em contato. Este fato foi verificado para o óleo essencial de *Origanum vulgare* L., família Lamiaceae, mesma família de *P. cablin*. O referido óleo foi considerado tóxico a *A. mellifera*, quando esta abelha entrou em contato, o qual provocou redução na sua sobrevivência (SILVA *et al.*, 2020). Efeito semelhante foi observado quando as operárias de *A. mellifera* africanizada entraram em contato com superfície vítrea tratada com óleo essencial de *P. cablin* e com o óleo essencial de *E. uniflora*, no presente trabalho.

No campo, as abelhas também podem se contaminar durante o forrageamento, com os óleos essenciais, no momento em que estes óleos estão sendo pulverizados sobre a cultura, os quais podem ser aspergidos diretamente sobre o corpo da abelha. A pulverização dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* (concentração 290 µL) diretamente sobre as abelhas *A. mellifera* africanizada recém-emergidas, reduziu a sobrevivência das mesmas (COLOMBO, 2019). A mesma concentração foi utilizada no presente trabalho e também provocou redução na probabilidade de sobrevivência das abelhas campeiras de *A. mellifera* africanizada, tanto com IC quanto com ID, em condições de laboratório.

A contaminação das abelhas com os óleos essenciais também pode ocorrer através da ingestão de alimentos, durante a coleta de pólen e néctar contaminados

no campo. Essa contaminação também pode ocorrer durante seus hábitos de higiene, na qual utilizam a probóscide para se limpar e limpar as demais operárias da colônia, podendo, nesse momento, se contaminar oralmente caso tenha resíduos do produto sobre o corpo. Nesse sentido, quando os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* foram ingeridos abelhas campeiras de *A. mellifera* africanizada, com idade conhecida e idade desconhecida, verificou-se que em 12 horas ocorreu drástica redução na sobrevivência destas. Efeito semelhante foi observado quando o óleo essencial de *Eucalyptus grandis* Hill, 1981 (Myrtaceae: Myrtales), mesma família de *E. uniflora*, foi incluído na dieta de larvas e abelhas adultas de *A. mellifera*, causando a mortalidade destas (42% a 60%, respectivamente) (XAVIER *et al.*, 2015).

Ao comparar a toxicidade do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Poales: Poaceae), via ingestão e via contato, Santos (2017) verificou que por ingestão este óleo foi, em média, 6,4 vezes mais tóxico para as abelhas *A. mellifera* do que quando estas abelhas entraram em contato com este mesmo produto. No presente trabalho, verificou-se que a probabilidade de sobrevivência de *A. mellifera*, é 3,5 vezes menor quando este inseto, com idade conhecida, ingere o óleo essencial de *E. uniflora* em comparação ao contato. Com este mesmo óleo as abelhas, com idade desconhecida, que também ingeriram o óleo essencial de *E. uniflora* não apresentaram essa diferença. A probabilidade de sobrevivência também é 2,4 vezes menor quando o óleo essencial de *P. cablin* é ingerido em comparação ao contato e, 1,6 vezes menor para abelhas com idade desconhecida. Assim, no presente trabalho, também é possível verificar que os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* são mais tóxicos quando a via de contaminação de *A. mellifera* é por ingestão.

Alguns óleos essenciais têm efeito inseticida sobre insetos da ordem Hymenoptera, mesma ordem das abelhas *A. mellifera*. É o caso, do óleo essencial de *E. uniflora*, o qual ocasionou a mortalidade das formigas soldados de *A. laevigata* (JUNG *et al.*, 2013). O mesmo óleo essencial na concentração de 0,75%, também é tóxico para o inimigo natural *C. noackae*, da ordem Hymenoptera, ocasionando redução no potencial de parasitismo de ovos, além de reduzir a porcentagem de emergência dos adultos (STENGER *et al.*, 2021). Esta é a mesma concentração utilizada neste trabalho e que também apresentou toxicidade para abelhas *A. mellifera*.

Da mesma forma, o óleo essencial de *O. majorana*, o qual pertence a mesma família de *P. cablin*, quando aplicado topicamente apresentou efeito tóxico sobre

operárias de *A. mellifera* europeia (GASHOUT; GUZMÁN-NOVOA, 2009). Assim como, óleo essencial de *P. cablin* demonstrou toxicidade a três espécies de formigas urbanas *C. melanoticus*, *C. novograndensis* e *D. thoracicus* (ALBUQUERQUE *et al.*, 2013), insetos da ordem Hymenoptera. O mesmo óleo também causou efeito repelente para três espécies de formigas cortadeiras, *A. sexdens*, *A. opaciceps* e *A. sexdens rubropilosa* (Hymenoptera), reduzindo a velocidade de deslocamento destas e causando efeitos prejudiciais em seu comportamento (ROCHA *et al.*, 2018).

No presente trabalho, os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* também foram tóxicos à *A. mellifera* reduzindo a probabilidade de sobrevivência das campeiras. Este não é o efeito desejado para organismos não-alvo, principalmente para as abelhas *A. mellifera*, em especial pelo declínio global que esses polinizadores vêm sofrendo, o que causa preocupação sobre impactos ecológicos, incluindo segurança alimentar e bem-estar humano (ABATI *et al.*, 2021; FRAZIER *et al.*, 2015; GONÇALVES, 2012; IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, 2012b; LESKA *et al.*, 2021; OLLERTON, 2017; VASILIEV; GREENWOOD, 2020). Por serem importantes polinizadores, devido a sua ampla distribuição e competência de forrageamento, garantem a reprodução da maior parte das plantas (EERAERTS *et al.*, 2019; KENDALL *et al.*, 2022; KUTUMO *et al.*, 2022; TARAKINI; CHEMURA; MUSUNDIRE, 2020). Além disso, são produtoras de mel, geleia real, própolis, cera e apitoxina, esses produtos, além de importância econômica, são úteis aos animais (CALDERONE, 2012; TAUTZ, 2010; WRIGHT *et al.*, 2018).

Além de interferir na sobrevivência, os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* afetaram a capacidade de deslocamento e retomada de voo das abelhas campeiras *A. mellifera* no presente estudo. Este comprometimento é negativo, pois mudanças no comportamento de voo interferem diretamente no forrageamento e no equilíbrio da colônia (GOMES, 2017; ROAT *et al.*, 2014; LIBARDONI *et al.*, 2021) e, conseqüentemente, diminuem a capacidade de conseguir recursos alimentares, além de prejudicar o serviço de polinização (ABRAHAM *et al.*, 2018; LUO *et al.*, 2021; SEIDE *et al.*, 2018).

A mudança na capacidade de voo das abelhas compromete toda a estrutura social da colônia, como verificado para *A. mellifera* que ao serem expostas oralmente ao inseticida imidaclopride (neonicotinoide), tiveram comportamento de forrageamento afetado, sendo que as abelhas apresentaram problemas na capacidade de localização e voo e acabaram não retornando para a colônia de origem

(YANG *et al.*, 2008). Outros neonicotinoides quando misturados em solução alimentar das abelhas *A. mellifera* prejudicaram o voo e as funções motoras básicas (WILLIAMSON *et al.*, 2014). Este efeito também pode ocorrer quando as abelhas *A. mellifera* são expostas ao herbicida glifosato (GLY), o qual pode alterar a capacidade de deslocamento e retomada de voo (BATTISTI *et al.*, 2021). Ao contrário do observado para produtos sintéticos, o óleo essencial de *C. martini*, não alterou o comportamento de locomoção e orientação de voo das abelhas *A. mellifera* africanizada (BARROS, 2022; SANTOS, 2017). Não há registros, até o momento de avaliações dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* sobre esse parâmetro em *A. mellifera*. A capacidade de voo é um importante fator a ser considerado quando se avalia a seletividade ou toxicidade de produtos a *A. mellifera*, como já observado em diversos trabalhos (CARVALHO *et al.*, 2009; FISCHER *et al.*, 2014; GOMES *et al.*, 2020; LIBARDONI *et al.*, 2021; TISON *et al.*, 2016; TOSI; BURGIO; NIEH, 2017; TOMÉ *et al.*, 2015).

A toxicidade dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* pode estar relacionada à composição, no qual cada composto possui diferente atividade contra insetos, como toxicidade, inibição da alimentação ou de oviposição. Os compostos estão presentes em quantidades distintas nos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* (ALBURQUERQUE *et al.*, 2013; GOKULAKRISHNAN *et al.*, 2013; MARDININGSIH; ROHIMATUN, 2021; ROCHA *et al.*, 2018; RICARDO, 2019; ZHU *et al.*, 2003).

No óleo essencial de *P. cablin* são encontrados álcool de patchouli, deltaguaieno, azuleno, trans-cariofelleno, seychelence (CAS), neftaleno, cicloheptano, cariofileno, patchoulol, α -guaieeno e γ -patchouleno os quais agem inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE) (COLOMBO, 2019; MARDININGSIH; ROHIMATUN, 2021). A inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) provoca um acúmulo de acetilcolina na sinapse, causando hiperexcitabilidade devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, assim como tremores, convulsões e, conseqüentemente, morte do inseto (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). No óleo essencial de *E. uniflora* são encontrados compostos como calamen-10-one, silfiperferol-6-em-5-one, germacrone e germacrene B (COLOMBO, 2019; STENGER *et al.*, 2021).

Além do mais, *E. uniflora* e *P. cablin* possuem compostos majoritários que são terpenos, mono e sesquiterpenos, compostos já conhecidos por serem tóxicos,

ocasionando alterações fisiológicas e comportamentais em insetos, como crescimento, desenvolvimento, reprodução, consumo alimentar, entre outras (CARVALHO *et al.*, 2017; CUNHA *et al.*, 2015; LOBO *et al.*, 2019; STENGER *et al.*, 2021; JUNG *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2013; FILOMENO *et al.*, 2020; PERREIRA *et al.*, 2019; TIETBOHL *et al.*, 2020; LUIZ *et al.*, 2017; YOUNOUSSA *et al.*, 2020), assim como para as abelhas *A. mellifera* (SILVA *et al.*, 2020). Nesse sentido, a redução da sobrevivência das abelhas *A. mellifera* nos bioensaios realizados com os óleos essenciais está, possivelmente, relacionada ao efeito tóxico que esses compostos apresentam.

Os óleos essenciais são metabólitos secundários lipofílicos e citotóxicos, que quando ingeridos ou em contato com o inseto, agem rompendo as estruturas presentes nas células dos insetos, provando a despolarização das membranas mitocondriais, afetando os canais iônicos (DAMBOLENA *et al.*, 2016). Óleos essenciais também apresentam potencial que afeta células epiteliais do intestino médio de insetos, como verificado para larvas *Aedes albopictus* Skuse, 1895 (GAAL *et al.*, 2018). Além disso, a toxicidade do óleo essencial dependerá de fatores bióticos e abióticos, genética da espécie, época de coleta, clima e tipo de solo (SIMÕES; SPITZER, 1999) como sazonalidade, temperatura, disponibilidade de água, radiação, nutrientes, e altitude, que podem causar variações significativas na composição química do óleo (GOBBO-NETO; LOPES 2007).

Apesar desses efeitos negativos, verifica-se que o impacto dos inseticidas químicos sintéticos também provoca alta taxa de mortalidade, maior do que 50%, já nas primeiras horas de exposição (BARROS, 2022; COSTA *et al.*, 2014) em *A. mellifera*, através do contato direto em superfície vítrea (BELSKY *et al.*, 2022; CHEN *et al.*, 2019; GHASEMI *et al.*, 2022), pulverização (GHASEMI *et al.*, 2022; WERNECKE *et al.*, 2022; ZHU *et al.*, 2015) e ingestão do alimento contaminado (ALMASRI *et al.*, 2020; AZPIAZU *et al.*, 2021; GHASEMI *et al.*, 2022; HE *et al.*, 2021; HELLER *et al.*, 2022; ULZIIBAYAR *et al.*, 2022). Assim como o observado para os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* independente da idade, reduzindo a sobrevivência de *A. mellifera* em 12 horas de exposição, em contato em superfície vítrea, pulverização direta e ingestão.

Outro fator a ser considerado é a toxicidade dos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* a abelhas campeiras *A. mellifera*, independente da idade. A idade dos organismos é pouco explorada, quando avaliado a seletividade e/ou toxicidade de

produtos, apesar de ser um fator importante para determinar a suscetibilidade destes aos produtos testados. Neste trabalho, nos testes de contato em superfície vítrea, pulverização direta sobre *A. mellifera* e ingestão não houve diferença de suscetibilidade aos óleos essenciais quando comparadas as abelhas com idade conhecida e desconhecida.

A idade das abelhas *A. mellifera*, quando estas não estão contaminadas, não é um fator que interfere nas respostas gustativa (BEHRENDTS *et al.*, 2007), na locomoção, no aprendizado, na responsividade a sacarose (RUEPPELL *et al.*, 2007), na memória e na aprendizagem (TSVETKOV *et al.*, 2019) deste inseto. Entretanto, quando em contato com produtos, a idade pode ser um fator determinante ou até um fator de estresse para a suscetibilidade de *A. mellifera*. A combinação do agrotóxico clotianidina e o fungicida piraclostrobina reduziu a sobrevivência e o comportamento tanto das abelhas recém-emergidas (1 dia de idade) quanto das abelhas de 3 a 4 dias, não havendo diferença entre as idades (TADEI *et al.*, 2019). No presente trabalho, conhecer a idade das abelhas foi um fator determinante apenas quando estas entraram em contato com superfície vítrea com o óleo essencial de *E. uniflora*, ou ingeriram este óleo essencial juntamente com a dieta. Em ambos os casos, as abelhas com ID tiveram probabilidade de sobrevivência menor do que as abelhas com IC e expostas ao mesmo óleo essencial.

A influência da idade pode interferir no comportamento e na sobrevivência das abelhas *A. mellifera*. As campeiras *A. mellifera* foram 4 vezes mais suscetíveis aos efeitos letais e subletais do inseticida flupiradifurona (neonicotinoide) do que as abelhas da colmeia, isto é, as abelhas que não atingiram idade de forrageamento. A exposição das campeiras ao inseticida interferiu na eficiência de forrageamento, bem como sua sobrevivência (TOSI; NIEH, 2019).

Zhu *et al.* (2020) verificaram que as abelhas campeiras *A. mellifera* apresentaram um aumento suscetível a cinco inseticidas (imidaclopride, acefato, λ -cialotrina, sulfoxaflor e oxamil) quando comparadas as abelhas recém-emergidas. As abelhas campeiras por estarem mais expostas a produtos contaminados, a medida que envelheceram, ficaram mais suscetíveis aos tratamentos, ocorrendo um aumento na mortalidade e uma diminuição do teor de proteína solúvel. Segundo os autores é importante padronizar a idade das abelhas em análises comparativas do risco de pesticidas para polinizadores. Apesar desse destaque, é importante salientar que esta

diferença na idade não foi verificado no presente trabalho, tampouco em outros já discutidos como o de TADEI *et al.*, (2019).

As abelhas *A. mellifera* campeiras são mais suscetíveis ao fungicida piraclostrobina do que as abelhas recém-emergidas (DOMINGUES *et al.*, 2020). No presente trabalho no bioensaio (3), o fator idade foi importante, pois as abelhas *A. mellifera* com idade desconhecida ficaram mais expostas a produtos no ambiente, além disso, por não terem sido marcadas, não se sabia a idade exata, não tendo conhecimento de quanto tempo já estavam forrageando, ao contrário das abelhas com idade conhecida, isto é, as que foram marcadas. Nesse sentido, existe uma grande diversidade de técnicas utilizadas por pesquisadores em experimentos envolvendo as abelhas e com isso existe a necessidade de padronizar os protocolos (HAVARD; LAURENT; CHAUZAT, 2019).

As abelhas campeiras durante a coleta de alimento, são expostas a agrotóxicos e patógenos, apresentando dificuldade de combater esses agentes, pois debilitam seu sistema imune, facilitando assim a infecção por patógenos ou por toxinas produzidas por estes (CALATAYUD-VERNICH *et al.*, 2018; GRAHAM *et al.*, 2022; JAFFE; LOIS; GUÉDOT, 2019; TRAYNOR *et al.*, 2016). Ao conseguir retornar para a colmeia de origem pode, acidentalmente, ocorrer uma contaminação dentro da colônia (KULHANEK *et al.*, 2017; LESKA *et al.*, 2021; STEINHAEUER *et al.*, 2018; SONTER *et al.*, 2021; ZALUSKI *et al.*, 2015). No entanto, quando aplicados em campo outros fatores podem interferir no modo de ação dos agentes, como temperatura, umidade e até mesmo a quantidade em que as abelhas irão se contaminar, assim os efeitos causados nas abelhas podem ser atenuados (MENDES, 2017; SANTOS *et al.*, 2017).

Além disso, existem formas de minimizar a exposição das abelhas aos óleos essenciais utilizados nas culturas. Um dos fatores é aplicar esses óleos fora do período de florescimento das plantas ou em horários em que não há forrageamento das abelhas, isto é, das 10 horas até as 13 horas, sendo que a partir das 15 horas esta atividade começa a ser encerrada pelos polinizadores (JUNG *et al.*, 2020). As condições climáticas podem interferir no comportamento das abelhas campeiras, tendo como preferência, períodos mais quentes e ensolarados, recomenda-se então, aplicações de produtos no final da tarde ou à noite, quando as abelhas não se encontram mais no cultivo (GAZZONI, 2017). São fatores importantes a serem

considerados pois minimizam os riscos de contaminação e, conseqüentemente, mantêm a sobrevivência de abelhas *A. mellifera*.

Entretanto, embora os óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin* tenham causado toxicidade às operárias de *A. mellifera*, reduzindo a probabilidade de sobrevivência destas, essa redução é, consideravelmente, inferior, quando comparado com a redução de sobrevivência ocasionado pelos inseticidas químicos sintéticos. Porém, ainda assim, sugere-se a realização de testes à campo, a fim de verificar o efeito de *E. uniflora* e *P. cablin* a *A. mellifera*. Assim como outros métodos de aplicação, diferentes concentrações, inclusive concentrações menores, em intervalo menor de avaliações, testes em idades diferentes nas abelhas *A. mellifera*, testes comparativos de marcação, diferentes épocas do ano, bem como teste de análise de voo e a ação dos óleos essenciais sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), microbiota intestinal e expressão gênica de AChE. Para que, então, o controle com o uso de inseticidas botânicos seja mais seguro quando empregado no controle de insetos-praga, de forma sustentável, além de garantir a segurança aos organismos não-alvo, com as abelhas *A. mellifera* africanizada.

8 CONCLUSÃO

A abelha *A. mellifera* africanizada, com ic e id, é suscetível aos óleos essenciais de *E. uniflora* e *P. cablin*, com redução na probabilidade de sobrevivência nos testes de contato em superfície vítrea, pulverização direta e ingestão. Além disso, estes óleos essenciais provocaram alterações no comportamento de voo (deslocamento vertical) e retomada de voo (queda livre) das abelhas campeiras *A. mellifera*, independente da idade.

REFERÊNCIAS

- ABEMEL. Associação Brasileira Dos Exportadores De Mel. Setor Apícola Brasileiro em Números. Dez. 2015. Disponível em: http://brazilletsbee.com.br/inteligencia_comercial_abemel_dezembro_2015. Acesso em: 19 mar. 2022.
- ABELHA. **Associação Brasileira de estudos das abelhas**. Origem e diversidade. 2020. Link: <https://abelha.org.br/origem-e-diversidade/>
- ABATI, Raiza. **Agrotóxicos e abelhas: cienciometria e análise de efeito residual de imidaclopride e beta-ciflutrina em canola *Brassica napus* L.** 2021. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021.
- ABRAHAM, J. BENHOTONS, G. S. KRAMPAH, I. TAGBA, J. AMISSAH, C. ABRAHAM, J. D. Commercially formulated glyphosate can kill non-target pollinator bees under laboratory conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 166(8), 695–702. 2018. <https://doi.org/10.1111/eea.12694>
- ABBASI, H. K. MUHAMMAD, J. S. Standardization of managed honey bee (*Apis mellifera*) hives for pollination of Sunflower (*Helianthus annuus*) crop. **Journal of King Saud University - Science** Volume 33, Issue 8, December 2021.
- ACAPAME. Associação Paulista de Apicultura, Criadores de Abelhas Melíficas Europeias. Produtores de maçã locais colmeias para assegurar polinização eficaz e obter mais qualidade e produtividade. **Mensagem Doce** nº 128. Setembro de 2014. Link: apacame.org.br/mensagemdoce/128/apiculturamigratoria.htm Acesso: 02 de agosto. 2022.
- AZPIAZU, C. BOSCH, J. BORTOLOTTI, L. MADRZYCKI, P. TEPER, D. MOLOWNY-HORAS, R. SGOLASTRA, F. Toxicity of the insecticide sulfoxaflor alone and in combination with the fungicide fluxapyroxad in three bee species. **scientific reports**. Article number: 6821. 2021.
- AGROSTAT. Estatísticas de Exportação e Importação Brasileira de Produtos Apícolas. 2021. <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>.
- ASSAD, A. L. D. ROCHA NETO, A. C. DA MARINHO, B. REHDER, D. P. MATOS, C. MENEZES, C. BASSO, E. C. KORS, J. A. M. BRUNELLI JÚNIOR, J. PIMENTEL, J. C. et al. **Plano de fortalecimento da cadeia produtiva da apicultura e da meliponicultura do Estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Estado de Agricultura e Abastecimento, 2018.
- ASTOLFI, A. **Transcriptoma de abelhas *Apis mellifera* L. campeiras expostas à dose ambientalmente relevante do fipronil**. Repositório Institucional UNESP Produção acadêmica e científica Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) - Botucatu Pós-Graduação em Zootecnia Dissertações - Zootecnia – FMVZ. 2021.
- AVILA, R. C. **Óleo essencial para o controle de pragas e patógenos na cultura do eucalipto**. 2020.
- ALENCAR, R. V. **Associação de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* para o Controle de *Alohitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)**. 2015. 56 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Dois Vizinhos, 2015.
- ALVES, D. S. CARVALHO, G. A. OLIVEIRA, D. F. Côrrea, A. D. Screening of Brazilian plant extracts as candidates for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Comombiana de Entomologia*, v. 44, p. 32-38, 2018.
- ALVES, D. S. FERNANDEZ, P. C. G. MARTIN, A. M. BUDIA, F. CARVALHO, G. A. ZANETTI, R. OLIVEIRA, D. F. TOXICITY OF ALKALOID FRACTIONS FROM *Psychotria* spp. (RUBIACEAE)

- AGAINST *Atta sexdens* FOREL, 1908 (HYMENOPTERA: FORMICIDAE). **CERNE**, v. 25, p. 255-262, 2019.
- ALBUQUERQUE, E. L. D. LIMA, J. K. A. SOUZA, F. H. O, et al. **Insecticidal and repellence activity of the essential oil of *Pogostemon cablin* against urban ants species**. (*Acta Trop*). 2013. 127: 181- 186.
- ALMEIDA, S. L. F. D. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais**. Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde Porto, 2017.
- ALMEIDA, M. J. O. de F.; NAVES, R. V.; XIMENES, P. A. INFLUÊNCIA DAS ABELHAS (*Apis mellifera*) NA POLINIZAÇÃO DA GABIROBA (*Campomanesia* spp.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 25–28, 2007. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/2581>. Acesso em: 20 fev. 2022.
- ALVES-DOS-SANTOS, I et al. Quando um visitante floral é um polinizador? **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 2, p. 295-307, 2016.
- ALTOE, D. M. **Atividade do Óleo Essencial de *Eugenia Uniflora* L. (Myrtaceae) Sobre *Sitophilus zeamais* MOTS. (Coleoptera: Curculionidae)**. Dissertação. Dois vizinhos. 2016.
- AMARO, P.; GODINHO, J. Pesticidas e abelhas. **Revista de ciências Agrárias**, v. 5, p. 53– 62, 2012.
- AMORIM, A. L. LIMA, F. HOVELL, A. C. MIRANDA, A. P. REZENDE, C. M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**. Volume 16, Issue 10, October 2009, Pages 923-928.
- ALMASRI, H. TAVARES, D. A. PIOZ, M. SENÉ, D. TCHAMITCHIAN, S. PRIMO, M. BRUNET, JL. BELZUNCES, P. Mixtures of an insecticide, a fungicide and a herbicide induce high toxicities and systemic physiological disturbances in winter *Apis mellifera* honey bees. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Volume 203, 15 October 2020.
- APARICIO-MURIANA, M. M.; LHOTSKA, I.; GARCIA-CAMPANA, A. M.; LARA, F. J. A first approach using micellar electrokinetic capillary chromatography for the determination of fipronil and fipronil-sulfone in eggs. **Electrophoresis**. v.10, p 1-7, 2020.
- ARAÚJO, V. C. TEBALDI, N. D. Intervalo de Aplicação de Óleos Essenciais no Controle da Mancha Bacteriana do Tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 45, p. 210-212, 2019.
- AURICCHIO, M.; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55 - 61, 2003.
- BARBOSA, M. V.; SOUSA, E. M. L. Biologia floral, ecologia da polinização e eficiência na produção de sementes de feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) em sistemas agrícolas. **Gaia Scientia**, v.10, p.272–283, 2016.
- BARBOSA, B. D. CRUPINSKI, F. E. SILVEIRA, N. R. LIMBERGER, H. C. D. As abelhas e seu serviço ecossistêmico de polinização. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. **UERGS**, v. 3, n. 4 (Número Especial), p. 694-703, 2017.
- BARÔNIO, J. G. MACIEL, A. A. OLIVEIRA, C. A. KOBAL, C. O. A. R. MEIRELES, L. A.D. BRITO, G. L.V. RECH, R. A. **Plants, pollinators and some contributions from pollination biology to the ecological theory**. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Inst. Biologia. Uberlândia, MG, Brasil. 2016.
- BAPTISTA, Y. A. **Efeitos de óleos essenciais sobre *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae)**. 2021.

- BAPTISTA, A. P. M. CARVALHO, A.G. CARVALHO, M. S. CARVALHO, F. C. FILHO, B. S. S. J. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 955–961, 2009.
- BELSKY, J. BIDDINGER, D. J. SEITER, N. JOSHI, N. K. Various routes of formulated insecticide mixture whole-body acute contact toxicity to honey bees (*Apis mellifera*). **Environmental Challenges**. Volume 6, January 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100408>
- BATTISTI, L. et al. Is glyphosate toxic to bees? A metaanalytical review. **Science of the Total Environment**, v. 767, p. 1–11, 2021.
- BERINGER, J. DA S.; MACIEL, F. L.; TRAMONTINA, F. F. O declínio populacional das abelhas: causas, potenciais soluções e perspectivas futuras. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 5, n. 1, p. 17–26, 2019.
- BACCI, L. LIMA, K. J. ARAÚJO, A. P.A. BRANCO, E. F.A. SILVA, M. I. SANTOS, A. A. SANTOS, C. A. ALVES, B. P. PICANÇO, C. M. Toxicidade, comprometimento do comportamento e repelência de óleos essenciais de alecrim-pimenta e patchouli a cupins. **Entomologia experimental aplicada**. Volume 156. Páginas 66-76. Edição 1. Julho de 2015.
- BARROS, C. H. P. **Sobrevivência e capacidade de voo de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) após exposição a resíduos de inseticidas em folhas de meloeiro**. 2022. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil, 2022.
- BEZERRA, I. C.F. RAMOS, R. T. M. FERREIRA, M. R.A. SOARES, L. A. L. Chromatographic profiles of extractives from leaves of *Eugenia uniflora*, **Revista Brasileira de Farmacologia**. 92-101, 2018.
- BEZERRA, J.E.F.; SILVA JÚNIOR, J.F. da; LEDERMAN, I.E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. 30p. (FUNEP. Série Frutas Nativas, 1). Jaboticabal: FUNEP, 2000.
- BLEICHER, E. **Manejo de pragas agrícolas com inseticidas alternativos**. Edição comemorativa dos 20 anos do PET Agronomia - UFC. Fortaleza, CE, pet Agronomia - UFC, 2012. <<http://www.petagronomia.ufc.br/download/Pet%2020%20anos%20Inceticidas%20Alternativos%20volume%204.pdf>>. Acesso em: 19 jan 2021.
- BRAGAIA, S. M. I. **A importância Econômica da Polinização em Culturas de Café no Manejo Agroecológico Brasileiro**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ecologia). Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro. 2022.
- BREEZE, T. D. VAISSIE'RE, B. E. BOMMARCO, R. PETANIDOU, T. SERAPHIDES, N. Agricultural Policies Exacerbate Honeybee Pollination Service Supply-Demand Mismatches Across Europe. **PLoS ONE**. 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0082996.
- BEHRENDTS, A. SCHEINER, R. BAKER, N. AMDAM, V. G. Cognitive aging is linked to social role in honey bees (*Apis mellifera*). **PUBMED.gov**. Exp Gerontol. 2007 dez;42(12):1146-53. doi: 10.1016/j.exger.2007.09.003. Epub 2007 Set 21.
- BOVI, T. S. **Toxicidade de inseticidas para abelhas *Apis mellifera* L.** 2013. 55 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2013. <<http://hdl.handle.net/11449/104999>>.
- BONFIM, A. G. I. FREITAS, M. B. OLIVEIRA, M. O. **Biologia das abelhas. Curso Técnico em Apicultura. Fundação Universidade Estadual do Ceará**. November. 2017.
- BORDIN, C. ALVES, D. S. ALVES, L. F. A. OLIVEIRA, M. S. ASCARI, J. SCHARF, D. R. Fumigant activity of essential oils from *Cinnamomum* and *Citrus* spp. and pure compounds against *Dermanyssus gallinae* (De Geer) (Acari: Dermanyssidae) and toxicity toward the nontarget organism *Beauveria bassiana* (Vuill.). **Veterinary Parasitology**. Volume 290, February 2021. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109341>

BPBES. Relatório Temático sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos no Brasil. 2019. https://www.bpbes.net.br/wpcontent/uploads/2019/03/BPBES_CompletoPolinizacao-2.pdf

CALDERONE, N. W. Insect Pollinated Crops, Insect Pollinators and US Agriculture: Trend Analysis of Aggregate Data for the Period 1992 – 2009. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. 24–28, 2012.

CAMARGO, R. C. R. PEREIRA, M. F. LOPES, R. T. M. **Produção de mel**. Embrapa Meio-Norte. Teresina, PI. 2002.

CHEN, L. YAN, Q. ZHANG, J. YUAN, S. LIU, X. Joint Toxicity of Acetamiprid and Co-Applied Pesticide Adjuvants on Honeybees under Semifield and Laboratory Conditions. **Environ Toxicol Chem**. 2019.

CALATAYUD-VERNICH, P. CALATAYUD, F. SIMÓ, E. PICÓ, Y. Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure. **Environmental Pollution**. Pages 106-114. Volume 241, October 2018.

CAMPOS, E. V. R. et al. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. **Ecological Indicators**, v. in press, p. 1–13, 2018.

CARVALHO, R. S. T. B. **A polinização por Apis mellifera e a qualidade de frutos em Solanum lycopersicum (Solanaceae)**. Universidade Federal de Uberlândia Instituto de Biologia Curso de Ciências Biológicas. Uberlândia- Minas Gerais. Fevereiro. 2017.

CARVALHO, F. P. Pesticides, environment, and food safety. **Food and Energy Security**, v. 6, n. 2, p. 48–60, maio 2017.

CARVALHO, N. R. DE. et al. Eugenia uniflora leaves essential oil promotes mitochondrial dysfunction in Drosophila melanogaster through the inhibition of oxidative phosphorylation. **Toxicology Research**, p. 1– 28, 2017.

CARVALHO, S. M. et al. Toxicidade De Acaricidas / Inseticidas Empregados Na Citricultura Para a Abelha Africanizada Apis Mellifera L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 597–606, 2009.

CASTILHOS, Dayson et al. **Desaparecimento e morte de abelhas no brasil, registrados no aplicativo bee alert**. 2018.

CASSINELLI, A. B., MACIEL, F. L., FRONZA, J., & SCHWANBACH, J. Atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais Eugenia uniflora e Psidium cattleianum contra o fitopatógeno Thielaviopsis basicola. **Revista Eletrônica Científica Da UERGS**, 250-256. 2019. <https://doi.org/10.21674/2448-0479.53.250-256>

COLOMBO, F. C. **Toxicidade dos óleos Essenciais de Eugenia uniflora e Pogostemon cablin. A operárias de Apis mellifera Africanizada**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Dois Vizinhos, 2019.

COSTA-MAIA, F. M.; LINO-LOURENÇO, D. A.; TOLEDO, V.de A. A. de. **Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. Sistemas de produção agropecuária (Ciências Agrárias, Animais e Floresta)**, Editora UTFPR, Dois Vizinhos, v. 1, n. 1, p. 45-67, 2010.

CASTRO, S. P.J. BENEDICTO, C. S. SUGAHARA, R. C. FILHO, S. F. C. Alternativas Sustentáveis ao uso intensivo de Agrotóxico na Agricultura Brasileira. **Revista Grifos**. N. 47. 2019.

CHENG, ZH. DUAN, HJ. ZHU, XR. FAN, FF. LI, R. LI, S. C. Effects of patchouli and wormwood oils on the bioassays and behaviors of *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Pest Management**, 66:3, 271-278. 2019. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1636155>

- CERQUEIRA, A. **Mortalidade de abelhas *Apis mellifera* em apiários e utilização de agrotóxicos em Citrus: estudo de caso na microrregião de Araraquara (SP)**. 2018.
- COUTO, R.H.N.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos**. 3ed. Jaboticabal: FUNEP, 192p. 2006.
- CONTRUCCI, B. A. Efeito das bactérias essenciais sobre as bactérias gram-negativas sobre os alimentos. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 23, n. 3, pág. 180-184. 2019.
- COSTA, M. E. ARAÚJO, L. E. MAIA, VP. A. SILVA, EL. F. BEZERRA, ES. C. SILVA, G. J. Toxicity of insecticides used in the culture of Brazilian melon for the bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie**. v. 45. Pág. 34–44. 2014.
- CGEE. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. **Importância dos polinizadores na produção de alimentos e na segurança alimentar global**, 124p. DF: 2017.
- CUNHA, S. O. D. **Estudos químico, histoquímico e anatômico das folhas de Eugenia pitanga (O. BERG) NIED e Eugenia dysenterica DC**. Dissertação. Goiânia. 2019.
- CUNHA, F. A. B. Cunha, G. L. Wallau, A. I. Pinho, M. E. M. Nunes, N. F. Leite, S. R. Tintino, G. M. da Costa, M. L. Athayde, A. A. Boligon, H. D. M. Coutinho, A. B. Pereira, T. Posser, J. L. Franco. **Eugenia uniflora leaves essential oil induces toxicity in Drosophila melanogaster: involvement of oxidative stress mechanisms** *Toxicol. Res. (Camb)*., 4 pp. 634-644. 2015.
- DA CRUZ LANDIM, Carminda. **Abelhas**. Unesp, 2009.
- CRUZ-LANDIM, Patricio, k. Mating influence in the ovary differentiation in adult queens of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). **Brazilian Journal of Biology**, Pág. 641-649. 2002.
- DAVID, A. M. et al., Strategic use of honey bees (*Apis mellifera* L.) to increase the number and size of fruits in kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa*). **European Journal of Agronomy** V. 133, February. 2022.
- DAMBOLENA, J. S. et al. Terpenes: Natural Products for Controlling Insects of Importance to Human Health — A Structure-Activity Relationship Study. **Pshyche**. Pág. 1– 17. 2016.
- DANTAS, T. F. O. **Óleos essenciais com atividade contra Pseudomonas aeruginosa: uma revisão integrativa**. 2018.
- DAS, K. **Patchouli (*Pogostemon Cablin Benth*) Oils**, Editor(s): Victor R. Preedy, Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, Academic Press. Pages 633-639. 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00072-9>.
- D'Avila, M., & Marchini, L. C. **Polinização realizada por abelhas em culturas de importância econômica no Brasil**. Boletim De Indústria Animal. Pág. 79-90. 2005. <http://www.iz.agricultura.sp.gov.br/bia/index.php/bia/article/view/1319>.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, Pág. 81–106, 2007.
- DE MENEZES, C. W. G. CARVALHO, A. G. ALVES, D. S. DE CARVALHO, A. A. AAZZA, S. DE OLIVEIRA, R. PINTO, V. PEREIRA, B. E. J. VILELA, S. K. Biocontrol potential of methyl chavicol for managing *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), an important corn pest. **Environmental Science and Pollution Research**, V. 27, Pág. 5030-5041, 2019.
- DIAS, G. E. A. CARVALHO, B. O. GOMES, C. MEDEIROS, C. SOUSA, R. LIMA, S. Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) na dieta de frangos de corte como equilibrador da microbiota intestinal. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. Pág. 108-114. 2015.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos. Pág. 288. 2002.

DOMINGOS, S. T. A. NÓBREGA, M. M, SILVA, R. A. Biologia das abelhas *Apis mellifera*: Uma revisão Bibliográfica. **ACTA APICOLA BRASILICA**. Pombal – PB. v. 04, n.2 (Edição Especial). Pág. 08 - 12, 2016.

DOMINGUES, C. E. C. INOUE, L. V. B. SILVA-ZACARIN, E. C, M, MALASPINA, O. Fungicide pyraclostrobin affects midgut morphophysiology and reduces survival of Brazilian native stingless bee *Melipona scutellaris*, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, V. 206. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111395>

DOMINGUES, C. E. C. INOUE, B.V. L. SILVA-ZACARIN, M. C. E. MALASPINA, O. Foragers of Africanized honeybee are more sensitive to fungicide pyraclostrobin than newly emerged bees. **Environmental Pollution**. V. 266, Part 2, November 2020.

DOMINGUES, C. E. C. **Análise dos Efeitos do Fungicida Piraclostrobina e do Inseticida Acetamiprida em Abelhas Eusociais (Hymenoptera: Apidae)**. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular). Rio Claro. 2021.

DZAMIC, A. M. Composição do óleo essencial, propriedades antioxidantes e antimicrobianas do óleo essencial e extratos desodorizados de *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 22, n. 2, pág. 493-503, 2019.

DWORZANSKA, D. MOORES, G. ZAMOISKA, J. STRAZYNSKI, P. WEGOREK, P. A influência de acetamiprid e deltametrina na mortalidade e comportamento de abelhas (*Apis mellifera* carnica Pollman) em cultivos de colza. **Apidologie**. 51 (6), 1143-1154. 2020.

EMBRAPA, **Embrapa Brasileira de Pesquisas Agropecuária, Ministério da Agricultura pecuária e abastecimento. Criação de Abelhas (Agricultura)**. Brasília. 2007.

EMBRAPA. **Produção de mel**. Sistema de produção 3, Embrapa Meio-Norte, Julho de 2003.

EERAERTS, M. VANDERHAEGEN, R. SMAGGHE, G. MEEUS, I. Pollination efficiency and foraging behaviour of honey bees and non-*Apis* bees to sweet cherry. **Agricultural and Forest Entomology**. Volume22, Issue1. February 2019.

EERAERTS, M.; SMAGGHE, G.; MEEUS, I. Bumble bee abundance and richness improves honey bee pollination behaviour in sweet cherry. **Basic and Applied Ecology**, v. 43, pág. 27–33, 2020.

FAITA, R. M. CHAVES, A. NODARI, O. R. A expansão do agronegócio: impactos nefastos do Desmatamento, agrotóxicos e transgênicos nas abelhas. **The expansion of agribusiness: harmful impacts of deforestation, pesticides and transgenics on bees**. Edição especial - Agronegócio em tempos de colapso planetário: abordagens críticas. V. 57, pág. 79-105, jun. 2021.

FAROOQUI, T. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: A unique hypothesis. **Neurochemistry International**, v. 62, n. 1, pág. 122–136, 2013.

FRANZON, R. C. CARPENEDO, S. VINOLY, S. RASEIRA, D. M. **Pitanga - *Eugenia uniflora* L.** In: Exotic Fruits. Academic Press, pág. 333-338, 2018.

FRANZON, R. C. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, pág. 488-491, 2008.

FRAZIER, M. T, MULLIN, C. A. FRAZIER, C. A. ASHCRAFT, S. A. LESLIE, T. W. MUSSEN, E. C. DRUMMOND, F. A. Assessing Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Foraging Populations and the Potential Impact of Pesticides on Eight U.S. Crops. **Journal of Economic Entomology**. 2015.

FENG, Y. WANG, Y. VOCE, X. C. GUO. S. S. DU, S. Bioatividades de patchoulol e floroacetofenona do óleo essencial de *Pogostemon cablin* contra três insetos. **Jornal Internacional de Propriedades Alimentares**. Ed: 1. V. 22, 2019.

FERNANDA, H.D. **Estudo da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de *Eugenia uniflora* L. e *Bromelia balansae* Mez. Visando a aplicação em cosméticos**. Dissertação. Campo Mourão. 2012.

FERNANDES, D. A. OLIVEIRA, L. HG. RIQUE, H. L. SOUZA, V. F. M. NUNES, F. C. Insights on the Larvicidal Mechanism of Action of Fractions and Compounds from Aerial Parts of *Helicteres velutina* K. Schum against *Aedes aegypti* L. **Molecules**, v. 25, n. 13, pág. 315, 2020.

FERREIRA, F. J. **Meta-análise dos efeitos dos óleos essenciais no consumo, desempenho e fermentação ruminal de bovinos de corte**. 2021.

FERREIRA, B. **Manual de Boas Práticas Agrícolas: Conservação e manejo de polinizadores para uma agricultura sustentável**. Fundo Brasileiro para a Biodiversidade- Rio de Janeiro, 2015.

FREITAS, B. M. A. Importância relativa de *Apis mellifera* e outras espécies de abelhas na polinização de culturas agrícolas. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3; 1998, Ribeirão Preto. **Anais**. 1998.

FREITAS, B.M. **The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale* L.)**. 1995. Thesis, University of Wales, Cardiff, UK. Pág. 197. 1995.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A importância econômica da polinização.

Mensagem Doce, n.80, pág. 44-46, 2005.

<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/80/polinizacao3.htm>. Acesso em setembro de 2021.

FREITAS, P.V. D X. D. RIBEIRO, F. M. ALMEIDA, E. M. D. ZANATA, R. A. ALVES, J. J. L. A. OLIVEIRA, V. F. FAQUINELLO, P. **Declínio populacional das abelhas polinizadoras: Revisão, Pubvet**, pág. 10. GO. 2017.

FRANÇOSO, C. F. BARBEDO, C. J. Tratamentos osmóticos e térmicos para controle de fungos em sementes de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Hoehnea**, v. 41, pág. 541-552, 2014.

FRIAS, B.E.D.; BARBOSA, C.D.; LOURENÇO A.P. **Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): impact on adult health**. *Apidologie*, v.47, pág. 15-25, 2015.

FILOMENO, C.A. BARBOSA, L. C. A. TEIXEIRA, R. R. PINHEIRO, A. L. FARIAS, E. S. FERREIRA, J. S. PICANÇO, M. C. Diversidade química de óleos essenciais de espécies de Myrtaceae e sua atividade inseticida contra *Rhyzopertha dominica*. **Proteção de Cultivos**. V. 137, novembro de 2020.

FIUZA, T. REZENDE, M. H. SABÓIA-MORAIS, S. M. BARA, M. TRESVENZOL, L. M. F. PAULA, L. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L (Myrtaceae) **Revista eletrônica de farmácia**. 2008.

FISCHER, J. MULLER, T. SPATZ, A. K, GREGGERS, U. GRUNEWALD, B. MENZEL, R. Os neonicotinóides interferem em componentes específicos da navegação em abelhas. **PLoS One**. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091364>

GIANNENAS, I. SIDIROPOULOU, E. BONOS, E. CHRISTAKI, E. FLOROU-PANERI, P. Chapter 1 - The history of herbs, medicinal and aromatic plants, and their extracts: Past, current situation and future perspectives. **Feed Additives Aromatic Plants and Herbs in Animal Nutrition and Health**. Pages 1-18. 2020.

GRAHAM, K. K. MILBRATH, M. O. ZHANG, Y. BAERT, N. MCART, S. ISAACS, R. Pesticide risk to managed bees during blueberry pollination is primarily driven by off-farm exposures. **scientific reports**. May 2022.

GALETTI, L. AIZEN, M. A. ARIZMENDI, D. C. FREITAS, B. M. GARIBALDI, L. A. GIANNINI, T. C. LOPES, A. V. SANTOS, M. S. MAÚES, M. M. NATRS-PARRA, G. RODRIGUEZ, J. I. QUEZADA-EUÁN, J. J. G. VANDAME, R. VIANA, B. F. IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Risks and opportunities associated with pollinators' conservation and management of pollination services in Latin America. **Ecologia austral**. V. 32. Pág. 001-194. Abril de 2022.

GAZZONI, D. L. **Soja e abelhas**. Embrapa: Brasília, DF, p. 151, 2017.

GASHOUT, H. A.; GUZMÁN-NOVOA, E. Acute toxicity of essential oils and other natural Compounds to the parasitic mite, *Varroa destructor*, and to larval and adult worker Honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Apicultural Research**, v. 48, n. 4, pág. 263–269, 2009.

GARCIA, M. O. **Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. 2018.

GAÑALONS, M. C. FARINA, M. W. Aprendizagem associativa prejudicada após exposição crônica a pesticidas em abelhas adultas jovens. **Jornal of experimental biology**. V. 221, Ed. 7. Abril de 2018.

GALLUCCI, S. NETO, A. P. PORTO, C. BARBIZAN, D. COSTA, I. MARQUES, K. FIQUEIREDO, R. Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: an industrial perfumery approach. **Journal of Essential Oil Research**. Pág. 176-179. 2010.

GHASEMI, V. SALEHINEJAD, A. JACK, C. SHARIFI, M. Toxic evaluation of Proclaim Fit® on honey bee workers: lethal and sublethal effects. **Springer. Ecotoxicology**. 2022. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1510904/v1>

GARIBALDI, L.A CAVALHEIRO, L. G. LEONHART, M. A. AIZEN, B. R. BLAAUW, R. ISSACS, M. KUHLMANN, D. KLEIJN, A. M. KREMEN, C. MORANDIN, L. SHEPER, J. R. Winfree from research to action: enhancing crop yield through wild pollinators **Front. Ecol. Environ**. 2014.

GALLO, D. (in memorian); NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, v. 10, 2002.

GAAL, H. FOUAD, H. MAO, G. TIAN, J. JIANCHU, M. Larvicidal and pupicidal evaluation of silver nanoparticles synthesized using *Aquilaria sinensis* and *Pogostemon cablin* essential oils against dengue and zika viruses vector *Aedes albopictus* mosquito and its histopathological analysis. **Artif Cells Nanomed Biotechnol. Epub**. 2018.

GOMES, N. I. VIEIRA, C. I. K. GONTIJO, M. L. RESENDE, C. H. Honeybee survival and flight capacity are compromised by insecticides used for controlling melon pests in Brazil. **Ecotoxicology**. V. 29, pág. 97–107. 2020.

GIANNINI, T. C.; BOFF, S.; CORDEIRO, G. D.; CARTOLANO JR, E. A.; VEIGA, A. K.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; SARAIVA, A. M. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. **Apidologie**, v. 46, pág. 209-223, 2015a.

GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZFONSECA, V. L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v.108, pág. 849–857, 2015b.

GIANNINI, T. C. ALVES, A.D. CORDEIRO, D. G. Campbell, J. A. AWADE, M. BENTO, S. M. J. SARAIVA, M. A. IMPERATRIZ-FONSECA. L. V. **Unveiling the contribution of bee pollinators to Brazilian crops with implications for bee management**. *Apidologie* volume 51, pages. 406–421. 2020.

GIMÉNEZ-MARTÍNEZ, P. ZUNIGA, F. JUNGES, C. MAGGI, M. FUSELLI, S. MARTÍNEZ, J. Immune-

related gene expression in honey bee larva (*Apis mellifera*) exposed to plant extracts from *Humulus lupulus* with antimicrobial activity against *Paenibacillus* larvae. **Apidologie**. V. 52, pages. 813–824. 2021.

GOKULAKRISHNAN, J. et al. Pupicidal and repellent activities of *Pogostemon cablin* essential oil chemical compounds against medically important human vector mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. v. 3, n. 1, p. 26–31, 2013.

GROSSMAN, Luiz.; ZITUNE, Gabriel.; BERTAZZI, Leticia. **Pitanga mágica: a mais brasileira das frutas na culinária, cosmética e saúde**. 1. ed. São Paulo: Optionline, 2010.

GROOT, A. SCHMIDT, E. **Part II: General Aspects. Dermatitis**. *Dermatite*: março/abril de 2016 – V. 27 – Ed. 2 – pág. 43-49.

GONÇALVES, L. S. Consequências do desaparecimento (CCD) das Abelhas no Agronegócio Apícola Internacional e em especial no Brasil. **Anais do X Encontro sobre Abelhas**, Ribeirão Preto, São Paulo, 2012.

GONÇALVES, L. S. Do the africanized bee of Brasil only sting? **Am. Bee J.**, Hamilton, v. 115, n. 1, pág.8-10, 1975.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTÍAS, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v.347:1255957, 2015.

GUPTA, MK. SURANJANA, PAL. Efeito dos óleos de patchouli e Neem no pulgão do repolho, *Brevicoryne Brassicae* L. **Indian Journal of Entomology**. V. 77, Ed. 2. 2015.

GULLAN, Peter J. **Os insetos: um resumo de entomologia**. São Paulo: Rocca, 2007.

HE, B. LIU, Z. WANG, Y. CHENG, L. QING, Q. DUAN, J. XU, J. DANG, X. ZHOU, Z. LI, Z. Imidacloprid activates ROS and causes mortality in honey bees (*Apis mellifera*) by inducing iron overload. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. V. 228, 25. December 2021.

HELLER, S. FINE, J. PHAN, N. T. RAJOTTE, E. G. LICITANTE, D. J. JOSHI, N. K. Toxicity of Formulated Systemic Insecticides Used in Apple Orchard Pest Management Programs to the Honey Bee (*Apis mellifera* (L.)). **Environments** 2022. <https://doi.org/10.3390/environments9070090>

HAVARD, T. LAURENT, M. CHAUZAT, P.M. Impact of Stressors on Honey Bees (*Apis mellifera*; Hymenoptera: Apidae): Some Guidance for Research Emerge from a Meta-Analysis. **Journals Diversity**. V. 12. Published: 20 December 2019.

HUNG, K.-L. J. et al. The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 285, n. 1870, pág. 20172140, 2018.

HIPÓLITO, J. BOSCOLO, D. VIANA, B. F. Landscape and crop management strategies to conserve pollination services and increase yields in tropical coffee farms, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, V. 256, Pages 218-225. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.038>

IPBES. **O Relatório de Avaliação da Plataforma Intergovernamental de Políticas Científicas Sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos Sobre Polinizadores, Polinização e Produção de Alimentos**. POTTS, S. G. IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. and H. T. Ngo (eds), 2016.

IPBES. **O Relatório de Avaliação da Plataforma Intergovernamental de Políticas Científicas Sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos Sobre Polinizadores, Polinização e Produção de Alimentos**. POTTS, S. G. IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. and H. T. Ngo (eds), 2017.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. et al. **Polinizadores no Brasil: Contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2012a.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. et al. O desaparecimento das abelhas melíferas (*Apis*

Mellifera) e as perspectivas do uso de abelhas não melíferas na polinização. **Documentos (Embrapa Semi-Árido. Online)**, v. 249, pág. 210–233, 2012b.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GONÇALVES, L. S.; JONG, D.; FREITAS, B.; CASTRO, M. S.; SANTOS, I. A.; VENTURIERI, G. C. Abelhas e desenvolvimento rural no Brasil. **Mensagem Doce**, n. 80, pág. 1-13, 2014.

Indian Ayurvedic Industry. Website. <https://economictimes.indiatimes.com/industry/>. (18th February 2020).

ITAGIBA, Maria da Gloria Oliveira Rademaker. **Noções básicas sobre criação de abelhas**. NBL Editora, 1997.

JAFFE, B. D. LOIS, A. N. GUÉDOT, C. Effect of Fungicide on Pollen Foraging by Honeybees (Hymenoptera: Apidae) in Cranberry Differs by Fungicide Type. **Journal of Economic Entomology**, Volume 112, Issue 1, February 2019.

JUNG, P.H.; SILVEIRA, A.C.; NIERI, E.M.; POTRICH, M.; SILVA, E.R.L.; REFATTI, M. **Atividade inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. *Floresta e Ambiente***, v.20, n.2, pág.191-196, 2013.

JUNG, A. MACHADO, M. R. R. STEFANELO, L. S. TASCHELO, R. GUEDES, J. C. Horários de forrageamento de *Apis mellifera* L. em soja e riscos de contaminação com pesticidas. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 5, n. 4, 14 fev. 2020.

JUNREN, C. XIAOFANG, X. MENGTING, L. QIUYUN, X. GANGMIN, L. HUIGIONG, Z. GUANRU, C. XIN, X. YANPENG, Y. FU, P. CHENG, P. '**Pharmacological activities and mechanisms of action of *Pogostemon cablin* Benth: a review**', *Chin. Med.* 16, 1–20. 2021.

JUNIOR, A. L.M. MORI, C. HALINSKI, M. R. BLOCHTEIN, B. FERREIRA, P. E. P. TOMM, O. PEREIRA, P. R. V. S. Manejo de insetos polinizadores adotado por produtores de canola do Rio Grande do Sul e do Paraná. **Embrapa**. Passo Fundo, RS. 2019.

JOHNSON, M. T. J. CAMPBELL, S. A. BARRETT, S. C. H. Evolutionary interactions between plant reproduction and defense against herbivores. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**. Pág.191-213. 2015.

KULHANEK, K. STEINHAUER, N. RENNICH, K. CARON, DM. SAGILI, RR. PETTIS, JS. ELIS, JD. WILSON, ME. WILKES, JT. TARPY, DR. ROSA, R. LEE, K. RANGEL, J. VANENGELSDORP, D. A national survey of managed honey bee 2015–2016 annual colony losses in the USA. **Journal of Apicultural Research**. V. 56, Pages 328-340. Issue 4, 8 August 2017.

KARAHAN, Ahmed et al. Efeitos subletais do imidaclopride nas escolhas de flores das abelhas quando forrageando. **Ecotoxicologia**, v. 24, n. 9, pág. 2017-2025, 2015.

KHAN, A. K. GHRAH, A. C. Pollen source preferences and pollination efficacy of honey bee, *Apis mellifera* (Apidae: Hymenoptera) on Brassica napus crop. **Journal of King Saud University – Science**. V. 33, Issue 6, September 2021.

KERR, W.E. The history of the introduction of African bees in Brazil. **Apiculture in Western Australia**. 2:53.55. 1967.

KENDALL, L. K. STAVERT, J. R. GAGIC, V. HALL, M. RADER, R. Initial floral visitor identity and foraging time strongly influence blueberry reproductive success. **Basic and Applied Ecology**. Pag. 114-122. V. 60. May 2022. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.02.009>

KUSEY, A. C. **Óleos essenciais: Aspectos gerais e Potencialidades**. Instituto Federal de Educação, ciência e Tecnologia Farroupilha. Campus Santo Ângelo. 2021.

KUSUMA, H. S. MAHFUD, M. Microwave hydrodistillation for extraction of essential oil from *Pogostemon cablin* Benth: Analysis and modelling of extraction kinetics. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 4, pág. 46–54, 2017.

KUTUMO, D, M. LIANG, H. OCHOLA, A. C. LV, M. WANG, GF. YANG, CF. Pollinator diversity benefits natural and agricultural ecosystems, environmental health, and human welfare. **Plant Diversity**. Available online 3 February 2022. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2022.01.005>

KULHANEK, K. STEINHAEUER, N. WILKES, J. KULHANEK, K. STEINHAEUER. N. WILKES, J. WILSON, M. SPIVAK, M. SAGILI, R.R. TARPY, D. R. MCDERMOTT, E. GARAVITO, A. RENNICH, K. As melhores práticas de gerenciamento derivadas de pesquisas para apicultores de quintal melhoram a saúde da colônia e reduzem a mortalidade. **PLoS ONE**. 2021.

KUSUMA, H. S. ALTWAY. A. MAHFUD. A. The application of face-centered central composite design for the optimization of patchouli oil extraction from *Pogostemon cablin* Benth dried leaves using microwave hydrodistillation method. **Journal of Chemical Technology Metallurgy**. Pág. 787–792. 2019.

KUSHRAM, T. SAHU, M. K. BAIRWA, P. L. Package and practices of apiculture. **The Pharma Innovation Journal**. Pág. 719-724. 2022.

KUPPUSAMY, E. GOKULAKRISHNAN, J. SHANMUGAM, D. et al. Pesticidal and repellent activities of *Pogostemon cablin* essential oil chemical compounds against medically important human vector mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, V. 3. Pages 26-31. 2013. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60006-7](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60006-7)

KONGKATHIP, N; SAM-ANG, P; KONGKATHIP, B; PANKAEW, Y; TANASOMBAT, M; UDOMKUSONSRI, P. **Development of patchouli extraction with quality control and isolation of active compounds with antibacterial activity**. Kasetsart Journal. Pág. 519-525, 2009.

LAGO, J. H. G. SOUZA, E. D. MARIANE, B. PASCON, R. VALLIN, M. A. MARTINS, R. C. C. BAROLI, A. CARVALHO, B. A. SOARES, M. G. SANTOS, R. T. SARTORELLI, P. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae—*Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kauser. **Molec**. 2011.

LUO, Q. H. GAO, J. GUO, Y. LIU, C. MA, Y. Z. ZHOU, Q. Y. DAI, P. L. HOU, C. S. WU, Y. Y. DIAO, Q. Y. Effects of a commercially formulated glyphosate solutions at recommended concentrations on honeybee (*Apis mellifera* L.) behaviours. **Scientific Reports**. 11, 1–8. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80445-4>

LESKA, A. NOWAK, A. NOWAK, I. GORCZYNSKA, A. Effects of Insecticides and Microbiological Contaminants on *Apis mellifera* Health. **PUBMED**. 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26165080>

LEE, K.V. STEINHAEUER, N. RENNICH, K. WILSON, M.E. TARPY, D.R. CARON, D.M. ROSE, R. DELAPLANE, K.S. BAYLIS, K. LINGERICH, E.J. PETTIS, J. SKINNER, J.A. WILKES, J.T. SAGILI, R. vanENGELSDORP, D. A national survey of managed honey bee 2013–2014 annual colony losses in the USA. **Apidologie**, v.46, pág. 292-305, 2015.

LIRA, A.F. **Estudo da cinética de inibição anticolinesterásica por dialquilfosforamidatos**. 2010. 77f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Exatas, Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

LIMA, HJDA, Barreto, SLDT, PAULA, ED, Dutra, DR, COSTA, SLD, & Abjaude, WDS. Níveis de remédios na ração de coccinídeos japonesas em postura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 16, pág. 73-81. 2015.

LIBARDONI, G.; Neves, P. M. O. J.; ABATI, R.; SAMPAIO, A. R.; COSTA-MAIA, F. M.; VISMARA, E. S.; LOZANO, E. R.; POTRICH, M. Possible interference of *Bacillus thuringiensis* in the survival and behavior of Africanized honey bees (*Apis mellifera*). **Scientific Reports**, v.11, pág. 3482, 2021.

LUIZ, A. L. Efficacy of botanical extracts from Brazilian savannah against *Diabrotica speciosa* and associated bacteria. **Ecological research**, v. 32, n. 3, pág. 435-444, 2017.

LOBO, A. P. CAMARA, C. A. G. MELO, J. P. R. MORAES, M. M. **Composição química e atividade repelente dos óleos essenciais das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* e *Eugenia uniflora* contra *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae)** J. Plant Dis. pág. 79-87. 2019.

MACIEL, Rodrigo Mendes Antunes. **Óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae)**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2015.

MALAGODI-BRAGA, K.S. **A polinização como fator de produção na cultura do morango**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2018.

MALASPINA, O. **Estudo genético da resistência ao DDT e relação com outros caracteres em *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. Pág. 81. Dissertação—Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Rio Claro, 1979.

MATA, B. J. **ÓLEOS ESSENCIAIS COMO ALTERNATIVA DE CONTROLE DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE IPÊ AMARELO (*Handroanthus chrysotrichus* Mart. Ex A. DC. Mattos)**. Dissertação. Dois vizinhos. 2015.

MAZARO, Sergio Miguel; CITADIN, Idemir; GOUVÊA, Alfredo de; LUCKMANN, Daiane; GUIMARÃES, Sabrina Santos. **Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira**. Ciência Rural. Santa Maria (SC), v. 38, n. 7, pág. 1824- 1829, 2008.

MARDININGSIH, T. L. ROHIMATUN. Bioatividades de óleos vegetais de Lamiaceae, Myristicaceae e Myrtaceae contra *Nilaparvata lugens* Stål. (Hemiptera: Delphacidae). IOP Publishing Ltd IOP: **Earth and Environmental Science**, V. 948, 4th International Conference on Biosciences (ICoBio 2021). 2021.

MACHIAL, M. C. SHIKANO, I. SMIRLE, M. BRADBURY, R. ISMAN, B. M. Avaliação da toxicidade de 17 óleos essenciais contra *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) e *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomological Society**. V. 66, Ed. 10. 2010.

MASSAROLI, A. PEREIRA, M. J. B. FOERSTER, L. A. ***Annona crassiflora* Mart. (Annonaceae): efeito do extrato bruto de sementes em larvas de lagarta-da-soja *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)**. **Bragança**, v. 76, pág. 398-405, 2017.

MCGRADY, M.C. TROYER. R. FLEISCHER.L, S. Wild Bee Visitation Rates Exceed Pollination Thresholds in Commercial Cucurbita Agroecosystems. **Journal of Economic Entomology**. Vol: 113. Universidade Estadual da Pensilvânia. 2020.

MELO, R. M. CORREA, F. S. V. AMORIM, A. C. L. MIRANDA, A. L. P. REZENDE, C. M. **Identification of impact aroma compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian pitangueira) leaf essential oil**. J. Braz. Chem. Pág. 179-183. 2007.

MENEZES, C. W. G. CARVALHO, G. A. ALVES, D. S. CARVALHO, A. A. AAZZA, S. OLIVEIRA RAMOS, V. BERTOLUCI, S. K. V. Potencial de biocontrole do metil chavicol no manejo de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), importante praga do milho. **Environmental Science and Pollution Research**. 2020.

MESENGUER, M. ALVES, A. BUDIA, T. J. S. ORTIZ, F. MEDINA, A. **Insecticidal Toxicity of Thirteen Commercial Plant Essential Oils against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)**. Phytoparasitica. 2018.

MENDES, D. D. **Efeito da Dose Ambientalmente Relevante do Fungicida Piraclostrobina no**

Transcriptoma de Abelhas *Apis mellifera* L. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. São Paulo. 2022.

MITCHELL, E. A. D.; MULHAUSER, B.; MULOT, M.; MUTABAZI, A.; GLAUSER, G.; AEBI, A. A worldwide survey of neonicotinoids in honey. **Science**, v. 358, n.6359, pág. 109–111. 2017.

MICAS, A. F. D. **Proteínas do tegumento de abelhas *Apis mellifera* em metamorfose: identificação por espectrometria de massa.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2012.
MITCHELL, E. A. D. MUHAUSER, B. MULOT, M. MUTABAZI, A. GLAUSER, G. AEBI, A. Uma pesquisa mundial de neonicotinóides no mel. **Science**. V. 358 , Ed. 6359 pág. 105. 2017.

MURUGAN, R. LIVINGSTONE, C. Origem do nome 'patchouli' e sua história. **Revitalisat**. Karnataka. Índia. 2010.

MORAWERTZ, L. KOGLBERGER, H. GRIESBACHER, A. DERAKHSHIFAR, K. BRODSCHNEIDER, R. MOOSBECKHOFER, R. Health status of honey bee colonies (*Apis mellifera*) and disease-related risk factors for colony losses in Austria. **PLOS ONE**. Published: July 9, 2019.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219293>.

MORFIN, N. ANGUIANO-BAEZ, R. GUZMAN-NOVOA, E. **Honey Bee (*Apis mellifera*) Immunity.** Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2021.

NASCIMENTO, C.E. MATOS, S.T. GENUNCIO, C.G. LEMES, G.P. MENDES, F.L. O mundo precisa das abelhas. **Hortifrúti**. Campo e negócio. 2019.

NETTO, V. A BLOCHTEIN, V. SANTOS, F. C. MENEZES, C. SILVA, N. P. JAFFE, R. AMOEDO, S. **Desafios e recomendações para o manejo e transporte de polinizadores.** A.B.E.L.H.A. – Associação Brasileira de Estudos das Abelhas. São Paulo. 2018.

NITHYANAND, P. SHAFREEN, B. M. R. MUTHAMIL, S. MURUGAN, R. PANDIAN, K. S. Essential oils from commercial and wild Patchouli modulate Group a Streptococcal biofilm. **Elsevier Science**. Culturas e Produtos industriais. Pág. 180-186. V. 69. 2015.

NOUVIAN, M. REINHARD, J. GIURFA, M. The defensive response of the honeybee *Apis mellifera*. **Journal of Experimental Biology**. V. 219. Pág. 3505-3517. November 2016. doi:10.1242/jeb.143016

NEMENYI, P. **Distribution-free Multiple Comparisons.** Ph.D. thesis, Princeton University, 1963.

OLIVEIRA, J. E. M. DE; NICODEMO, D.; OLIVEIRA, F. F. DE. Contribuição da polinização entomófila para a produção de frutos de aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 1, pág. 56–65, 2015.

OLIVEIRA, R, M, I. Controle de ***Alternaria solani* em tomateiro com óleo essencial de Pitangueira.** Universidade Federal da Fronteira Sul Campus Laranjeiras do Sul Curso de Agronomia. Laranjeiras do Sul. 2017.

OLIVEIRA, M. E. C. O. **Polietismo e detecção de vírus deformador das asas em abelhas *Apis mellifera scutellata* (Africanizada) e *Apis mellifera* linguística europeia.** Piracicaba. 2013.

OLIVEIRA, E. R. ALVES, D. S. CARVALHO, G. A. OLIVEIRA, B. M. RIBEIRO, G. AAZZA, S. BERTOLUCCI, S. K. V. Toxicity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and citral for *Spodoptera frugiperda*. **CIENCIA E AGROTECNOLOGIA**, v. 42, pág. 408-419. 2018.

OLINTO, F. A.; SILVEIRA, D. C.; LIMA, D. C.; MARACAJÁ, P. B. Comportamento higiênico em colmeias de *Apis mellifera* L. africanizadas no Sertão da Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v.10, n.3, pág.08-12. 2015.

OLIVEIRA, M. L.; CUNHA, J. A. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepelletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica? **Acta Amazonica**, v. 35, n. 3, pág. 389 – 394, 2005.

OLLERTON, J. Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2017. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919>

OLLERTON, J. **Polinizadores e Polinização: Natureza e Sociedade**. Pelagic Publishing, Exeter, 2021.

OLIVEIRA, C. FERREIRA, JÁ. GARCIA, L. S. Óleos essenciais de *Eugenia uniflora*, *Melaleuca armillaris* e *Schinus molle* para o manejo de larvas do vetor filarial *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Environ Sci Pollut Res*. 2022.

OGUNWANDE, I. A. OLAWORE, N. O. EKUNDAYO, O. WALKER, O. SCHMIDT, T. M. SETZER, W. N. **Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L.** *Int. J. Arom. Pág.* 147–152, 2005.

OSTERMAN, J. AIZEN, M. A. JACOBUS, B. C. BOSCH, J. HOWLETT, B. G. INOUE, D. W. JUNG, C. DINO, M. J. MEDEL, R. PAUW, A. SEYMOUR, C. L. PAXTON. R. J. Global trends in the number and diversity of managed pollinator species. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. V. 322. 2021.

QUEIROZ, J. M. G. D. SUZUKI, M. C. M. MOTTA, A. P. R. NOGUEIRA, J. M. R. CARVALHO, E. M. D. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. *Rev. Fitos*; 9(2): 87-100, 2015.abr-jun. FIOCRUZ. 2015.

PALOSCHI, C. L. **Presença de Imidacloprid e Fipronil no Mel e o Efeito em Operárias de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) Africanizada**. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel. 2021.

PATATT, K. BEIER, C. MARTINAZZO, G. E. **Relação entre as Cores Florais e sua Polinização por Abelhas**. SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica. 2011.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*, v. 21, n. 12, pág. 1000–1007. 2016.

PAVELA, R. **Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis***. *Fitoterapia*, v.76, n.7-8, pág. 691-696. 2005.

PALUDO, C. R. **Estudo químico e biológico de micro-organismos à abelha sem ferrão *Scaptotrigona depilis***. 2017. Pág. 173. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêutica) – USP, Ribeirão Preto, 2017.

PENG, G. TONG, S. ZENG, D. XIA, Y. FENG, M. O aquecimento da colônia protege as populações de abelhas do risco de contato com inseticidas *Beauveria bassiana* de amplo espectro aplicados no campo. *Pest Management Science*. V. 76. Pág. 2627-2634. Ed. 8. 2020.

PEREIRA, F. de. M.; LOPES, M. T. do. R.; CAMARGO, R. C. R. de.; VILELA, S. L. de. O. **Produção de mel**. Embrapa Meio Norte, Sistema de Produção, v. 3, jul. 2003. Disponível em: Acesso em: 14 set. 2021.

PEIXOTO, C. A. OLIVEIRA, A. L. CABRAL, F. A. Composition of supercritical carbon dioxide extracts of pitanga (*Eugenia uniflora*) leaves. V. 33. *Journal of food process engineering*. 2010.

PEREIRA, S. D. CRUZ, A. R. DIMATÉ, R. A. BATISTA, D. L. RIBEIRO, C. L. FERREIRA, R. A. G. ZANUNCIO, C. J. Bioatividade de dez óleos essenciais sobre os parâmetros biológicos de adultos de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Culturas e Produtos Industriais*. Pág.11-15. V.127. 2019.

PEREIRA, N. L. F. AQUINO, P. E. A. JUNIOR, J. G. A. S. CRISTO, J. S. FILHO, M. A. V. MOURA, F. F. FERREIRA. N. M. N. SILVA, M. K. N. NASCIMENTO, E. M. CORREIRA, F. M. A. CUNHA, F. A. B.

BOLIGON, A. A. COUTINHO, H. D. M. MATIAS, E. F. F. GUEDES, M. I. F. **In vitro evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with ledlights.** *Microb. Pathog.* Pág. 512-518, 2017.

PERVEEN, K. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Commiphora molmol* Oleo Gum Resin. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 3, pág. 667-673, 2018.

PEREIRA, A. M. **Efeitos de inseticidas na sobrevivência e no comportamento de abelhas.** 2010. Pág.125. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

PEREIRA, F. de. M.; LOPES, M. T. do. R.; CAMARGO, R. C. R. de.; VILELA, S. L. de. **O. Produção de mel.** Embrapa Meio Norte, Sistema de Produção, v. 3, jul. 2003.

PEREIRA, S. R. I. MONTEIRO, G. I. SIQUEIRA, P.L. Extract of *Eugenia uniflora* L. (Pitangueira) And it's Anti-inflammatory Action in Dermatological Affections – A Literature Review. **Brazilian Journal of Development Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n.6, pág. 33630-33645. jun.2020.

PEREIRA, Matheus Nunes et al. Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Thielaviopsis paradoxa*. **AMBIÊNCIA**, v. 14, n. 3, pág. 513-521. 2018.

PEREIRA, R. H. G. POTRICH, M. COLOMBO, C.F. **Seletividade do óleo essencial de Pogostemon cablin a Apis mellifera Selectivity of Pogostemon cablin essential oil to Apis mellifera.** SICITE. Seminário de Iniciação científica e tecnológica. Apucarana. 2018.

PEGORARO, A. et al. **Aspectos práticos e técnicos da apicultura no sul do Brasil.** 2017. Pág. 282. Universidade Federal Do Paraná. Curitiba, 2017. Disponível em: Acesso em: 01 fev 2020.

PEGORINI, C. S. **Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae).** 2016. Pág. 65. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) -Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Dois Vizinhos, PR, 2016.

POHLERT. T. The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). R package. 2014. <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>.

PERUZZOLO, M. C. DA CRUZ, B. C. F; RONQUI, L. **Polinização e produtividade do café no Brasil.** *PUBVET*, v. 13, pág. 152. 2019.

PREEDY, V. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*-Academic Press Imprint, **Elsevier Science & Technology Books.** 2015.

PISA, L. W. AMARAL-ROGERS, V. BELZUNCES, L. P. et al. Efeitos de neonicotinoides e fipronil em invertebrados não-alvo. **Environ Sci Pollut Res.** Pág. 68–102. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3471-x>

PIRES, C. S. S.; PEREIRA, F. M. P.; LOPES, M. T. L.; NOCELLI R. C. F.; MALASPINA, P. J. S.; TEIXEIRA, E. W. **Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas.** Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 51. Pág. 21. 2016.

PIRES, S. D. P. SANTÁNA, J. OLIVEIRA, B. R. Respostas eletroantegráficas e comportamentais de abelhas africanizadas, *Apis mellifera* (Linnaeus), ao feromônio de Nasanov e ao óleo essencial de capim-limão. **Entomobrasilis.** 2018. <https://doi.org/10.12741/ebrazilis.v11i2.769>.

PINHEIRO, M. Polinização por abelhas. *Biologia da polinização.* **Revista Editorial Ceres Belchior.** Rio de Janeiro. 2014.

PINHIERO, G. H. R. POTRICH, M. COLOMBO, F. C. **Seletividade do óleo essencial de Pogostemon cablin a Apis mellifera.** SICITEXXIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR. Apucarana. 2018. <https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2018>.

- PIMENTA, E. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Lamiaceae) contra cepas de *Candida glabrata*. **Scientia Plena**, v. 15, n. 6, 2019.
- PREETI, L. B. SANJAYKUMAR, J. R. PATEL; MEGHAL, A. D. Patchouli oil: an overview on extraction method, composition and biological activities, **Journal of Essential Oil Research**. 2022.
- POTTS, S. G. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 25, n. 6, pág. 345–353. 2010.
- POTTS, S. G. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature**. Pág. 220–229. 2016. <https://doi.org/10.1038/nature20588>
- POTTS, S. Status and trends of European pollinators: Key findings of the STEP project. **Sofia: Pensoft Publishers**. 76 p. 2015.
- POTRICH, M. SILVA, R. T. L. MACIEL, R. M. COSTA-MAIA, F. M. LOZANO, E. R. ROSSI, R. M. MARTINS, J. DALLACORT, S. Os extratos vegetais são seguros para as abelhas (*Apis mellifera*)? **Jornal de Pesquisa Apícola**. – Ed. 5. V. 59. 2020.
- POHLERT, T. The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). R package, 2014. <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. URL <https://www.R-project.org/>
- ROAT, T. C. SANTOS, P. SANTOS, J. R. A. SANTOS, L. D. MALASPINA, K. S. PALMA, O. Modification of the brain proteome of Africanized honeybees (*Apis mellifera*) exposed to a sub-lethal doses of the insecticide fipronil. **Ecotoxicology**, 2014.
- ROAT, T. C. **Diferenciação do cérebro de *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) durante a metamorfose: estudo comparativo entre castas e sexos**. Tese de doutorado - Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2008.
- RAMYA, H G; PALANIMUTHU, V.; RACHNA, S. **An introduction to patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) – A medicinal and aromatic plant: it's importance to mankind**. Agric Eng Int: CIGR Journal. pág. 243–250, 2013.
- RAMOS, J.M.; CARVALHO, N.C. Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v.6, n.10, pág.1-21, 2007.
- REIS, I. M. F. R. **Atividade inseticida do óleo essencial de *Acmella oleracea* sobre *Rhyzopertha dominica***. 2018.
- REMOLINA, C. S, HAFEZ, M. D. ROBISON, E. G. HUGLES, A. K. Senescence in the worker honey bee *Apis Mellifera*. **Journal of Insect Physiology**. V. 53. 2007.
- RICKETTS, T. H. **Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns?** Ecology letters, 2008.
- RINKEVICH, D. F. MARGOTTA, W.J PITTMAN, M. J. DANKA, G. R. TARVER, R. M. OTTEA, A. J. HEALY, B. K. Genetics, Synergists, and Age Affect Insecticide Sensitivity of the Honey Bee, *Apis mellifera*. **PLOS ONE**. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139841>
- RICARDO, A. S. **Associação de *Beauveria bassiana* e do óleo essencial de *Pogostemon cablin* para o controle de *atta sexdens***. Pág. 27. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2019.

- ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, n. 2, pág. 43-50, Campo Grande. 2001.
- ROTMAN, A.D. **Las espécies argentinas del género Eugenia Myrtaceae**. **Boletín de la sociedad Argentina de Botánica**, Córdoba, v.13, n.1-2, pág. 68, 1995.
- ROUBIK, D. W. **The pollination of cultivated plants: a compendium for practitioners**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma. 2018.
- ROSA, M, J. ARIOLI, J. C. NUNES-SILVA, P. GARCIA, M. R. F. Desaparecimento de abelhas polinizadoras nos sistemas naturais e agrícolas: Existe uma explicação? **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Universidade do Estado de Santa Catarina. 2018.
- ROCHA, M. C. L. S. A. **Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil: proposta metodológica de acompanhamento**. Brasília: Ibama, pág. 81. 2012.
- ROCHA, A. G. OLIVEIRA, S. M.B. MELO, C.R. SAMPAIO, T. S. BRANCO, AF. LIMA, A. D. NUNES, R. S. ARAÚJO, A. P.A. CRISTALDO, B. Efeito letal e respostas comportamentais de formigas cortadeiras ao óleo essencial de *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) e sua nanoformulação. **Entomologia Neotropical**. 2018.
- RUEPPELL, O. CHRISTINE, S. MULCRONE, C. GROVES, L. **Aging without functional senescence in honey bee workers**. *Curr. Biol.* 2007.
- R CORE TEAM. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- SAMPAIO, A. R. **Análise de agrotóxicos e Acibenzolar-S-Metílico (ASM) em *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) e a ação de ASM na indução de resistência em soja**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2020.
- SANDES, S. S.; BLANK, A. F; BOTÂNICO, M. P; BLANK, F. A; VASCONCELOS, J. N. C; MENDONÇA, S. A. D. **Estruturas secretoras foliares em pachouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]** *Scientia plena* v.8, 2012.
- SÁ, A. F. SOUSA, A.A.H.P. Defensividade de Abelhas *Apis mellifera* L. Africanizadas defensivity of *Apis mellifera* L. Africanized bees. **Revista científica de medicina veterinária** - ISSN 1679-7353 Ano XVI – N. 32. 2019.
- SAEZ, A. NEGRI, P. V, M. AIZEN, A. M. **Pollination efficiency of artificial and bee pollination practices in kiwifruit**. *Scientia Horticulturae*. V. 246. Grupo de Ecología de la Polinización (ECOPOL). Argentina. 2019.
- SANTANA, V.V. PATRYCK, C. V. MORAES, A. F. ALVIM, S. ARRUDA, S. OLIVERIA, C. T. LAMEGO, R. V. ROCHA, F. **Produtos Cosméticos fotoprotetores contendo extratos vegetais, é viável?** **Brazilian journal of health and prahmacy**. 2019.
- STEINHAEUER, N. KULHANEK, K. ANTÚNEZ, K. HUMANO, H. CHANTAWANNAKUL, P. CHAUZAT, MP. VANENGELSDORP, D. Drivers of colony losses (Review). **Insect Science**., Pages 142-148. V. 26. 2018.
- SANTOS, A. C. C. SILVA, I. M. A. SANTOS, A. A. ALBURQUERQUE, E. L. D. OLIVEIRA, A. P. OLIVEIRA, J. W. S. VIEIRA, J. V. BACCI, L. **Toxicidade de plantas medicinais e aromáticas à abelha *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. Universidade Federal de Sergipe – UFS, DEA. CEP 49100-000, aneccelestinos.18@gmail.com; bacci.ufs@gmail.com.2012.

- SANTOS, L. P. PRANDO, B. M. MORANDO, R. PEREIRA, N. V. G. KRONKA, Z. A. **Utilização de Extratos Vegetais em Proteção de Plantas**. Enciclopédia Biosfera. Centro Científico Conhecer. v.9, n.17. Goiânia. 2013.
- SANTOS, A. M. M. dos; MENDES, E. C. Abelhas africanizada (*Apis mellifera* L.) em áreas urbanas no Brasil: necessidade de monitoramento de risco de acidentes. **Revista Sustinere**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, pág. 117-143. 2016.
- SANTOS, A. C.C. óleos essenciais de *Cymbopogon martinii* e seu constituinte Majoritário **Geraniol: Influência na Mortalidade e Comportamento de *Apis mellifera* (Apidae)**. Universidade Federal de Sergipe pró-reitoria de pós-graduação e pesquisa Programa de pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade. Sergipe. 2017.
- SANTOS, P. R. CECILIO, R. ROGGIA, S. ROSSONI, D. F. TOLEDO, V. A. A. Africanized honeybee and its contribution to soybean yield in Brazil. **American Journal of Agricultural Research**. AJAR. 2019. AJAR: <https://escipub.com/american-journal-of-agricultural-research/>
- SAITO, M.L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. EMBRAPA, v. 12, pág. 46. 1998.
- SAVOIA, D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. **Future Microbiology**, v. 7, pág. 979-990, 2012.
- STRAUB, L., VILLAMAR-BOUZA, L., BRUCKNER, S., CHANTAWANNAKUL, P., GAUTHIER, L., KHONGPHINITBUNJONG, K., RETSCHNIG, G, TROXLER, A., VIDONDO, B., NEUMANN, P., WILLIAMS, G.R. **Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect contraceptives**. 2016.
- SPLETOZER, A. G. SANTOS, C. R. SANCHES, L. A. GARLET, J. Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. **Ciência Florestal**, v. 31, pág. 974-997, 2021.
- SERAFINI, Mauro et al. Potencial antioxidante total de frutas e vegetais e risco de câncer gástrico. **Gastroenterologia**, v. 123, n. 4, pág. 985-991, 2002.
- SEIDE, V.E., BERNANDES, R.C., PEREIRA, E.J.G., LIMA, M.A.P. Glyphosate is lethal and Cry toxins alter the development of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. **Environ. Pollut.** Pág. 1854–1860. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.020>
- SEAB. SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Paraná se destaca como líder nacional nas exportações de mel. Acesso: 26 de marc de 2022. Doc: <https://www.agricultura.pr.gov.br/Noticia/Parana-se-destaca-como-lider-nacional-nas-exportacoes-de-mel>. 2021.
- SEBRAE. Negócios de Impacto Social e Ambiental sob a Perspectiva de Clientes Sebrae. Brasília. 2015. Disponível: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/conheca-o-historico-da-apicultura-no-brasil,c078fa2da4c72410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso: 19 abril. 2022.
- SHARMA R, RAO, R. KUMAR, S. MAHANT, S. KHATKAR, S. Therapeutic Potential of Citronella Essential Oil: A Review. PUBMED. 2019. 16(4):330-339. Doi: 10.2174/1570163815666180718095041.
- SILVA, M. I. **Óleos essenciais no controle de praga e seletividade a organismos não Alvos**. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, 26 de julho de 2016.
- SILVA, M. A. **Entenda a importância das abelhas na agricultura**. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). 25 DE ABRIL DE 2019.
- DA SILVA, M. R; DE FARIAS, P. M. O óleo essencial de Pimenta racemosa é eficiente inseticida para controle de *Sitophilus spp.* (Coleoptera: Curculionidae) em grãos armazenados. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 26, n. 1, p. 7-17, 2020.

- SILVA, R. M. Caracterização comportamental e métodos alternativos de controle da broca do bambu *Dinoderus minutus* Fabricius (Coleoptera: Bostrichidae)]. **Idesia**, v. 37, n. 2, pág. 5-12, 2019.
- SILVA, I. M. ZANUNCIO, S. J. C. BRUGGER, B. P. SOARES, M. A. ZANUNCIO, A. J. V. WILCKER, C. F. TAVARES, W. S. SERRÃO, J. E. SEDIYAMA, C. S. Selectivity of the botanical compounds to the pollinators *Apis mellifera* and *Trigona hyalinata* (Hymenoptera: Apidae). **Scientific reports**. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61469-2>
- SIEGA, T. C. **Óleos essenciais no controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) de Bary in vitro**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2018.
- STASIAK, Marcos Antônio. **Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2018. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.
- SOUZA, L. P. ZAGO, H. B. COSTA, A. V. STINGUEL, P. VALBON, W. R. Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de erva-de-santa-maria sobre o ácaro-rajado. **Revista Caatinga**, 28(1), 160-166. 2015.
- STANLEY, D. A. GARRATT, M. P. WICKENS, J. P. WICKENS, V. J. POTTS, S. G. RAINE, N. E. Neonicotinoid pesticide exposure impairs crop pollination services provided by bumblebees. **Nature**. 2015.
- SCHMUCK, R. LEWIS, G. Review of field and monitoring studies investigating the role of nitro-substituted neonicotinoid insecticides in the reported losses of honey bee colonies (*Apis mellifera*). **Ecotoxicology**. 2016.
- SEITZ, N. TRAYNOR, K. S. STEINHAUER, N. RENNICH, K. WILSON, M. E. ELLIS, J. D. TARPY, D. R. SAGILI, R. R. CARON, D. M. DELAPLANE, K. S. RANGEL, J. LEE, K. WILKES, J. T. SKINNER, J. A. PETTIS, J. S. VANENGELSDORP, D. A national survey of managed honey bee 2014–2015 annual colony losses in the USA. **Journal of Apicultural Research**. 2016.
- STENFER, L. D. LIBARDONI, G. JÚNIOR, A. W. ZANELA, J. ALVES, T. L. VARPERCHOSKI, G. O. LOZANO, E. R. POTRICH, M. Essential oils in pathogen resistance induction of *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage. **FORESTRY SCIENCE**. Cienc. Rural 51 (9). 2021. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190915>
- STENGER, L. D. óleos essenciais sobre *Thaumastocoris peregrinus*, sobre o parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* e na indução de resistência em *Eucalyptus benthamii*. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.
- STENGER, L. D. ABATI, R. PAWLAK, I. G. VARPECHOSKI, G. O. VISMARA, E. S. BARBOSA, L. R. JUNIOR, A. W. LOZANO, E. R. POTRICH, M. Toxicity of essential oil of *Eugenia uniflora* (L.) to *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) and selectivity to the parasitoid *Cleruchoides noackae* (Lin & Hubert) (Hymenoptera: Mymaridae), **Crop Protection, Science**. Volume 147, 2021, 105693, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105693>.
- STEFENI, R. A. **INTENSIDADE LUMINOSA E CRESCIMENTO DE MUDAS DE PITANGUEIRAS (*Eugenia uniflora*)**. Dissertação. De Mestrado, do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos. 2018.
- SWAMY, K. M. SINNIH, R. **Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.): Botany, agrotechnology and biotechnological aspects, Industrial Crops and Products, Culturas e Produtos Industriais**. Volume 87, setembro de 2016.
- SILVA, R. P. D. MACHADO, B. A. S. COSTA, S. S. BARRETO, G. A. PADILHA, F. F. UMSZA-GUEZ, M. A. Aplicação de Extrato de Própolis em Produtos Alimentícios: Uma Prospecção Baseada em Documentos de Patentes. **Rev. Virtual Quim**. Pág. 1251-1261. 4 de julho de 2016. <http://rvq.sbq.org.br>

- SILVA, L. **A Gênese do Valor Econômico dos Serviços de Polinização Prestados Pelas Abelhas A Indústria de maçã de Fraiburgo (SC): Análise a Luz da Nova Sociologia Econômica (NSE)**. Dissertação Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2016.
- SILVA, M. I. **Óleos essenciais no controle de praga e seletividade a organismos não alvos**. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. VIÇOSA. MINAS GERAIS- BRASIL. 2016.
- SILVA, S. M. M. SILVEIRA, D. *Eugenia dysenterica* Mart. Ex DC. (Cagaita): planta brasileira com potencial terapêutico. **Revista Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 27, n. 1, pág. 49-95, 2015.
- SILVA, V. P. **Atividades Biológicas de óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae**. Instituto Federal de Educação, ciência e Tecnologia. Goiano. Campus Rio Verde. 2017.
- SILVA, M. G. GUIMARÃES, V. A. FRANÇA, M. P. Docência, pesquisa e liderança em zootecnia. A polinização de abelhas *Apis mellifera* em duas tecnologias de soja. **Editora Atena**. Ponta Grossa. 2021.
- SILVA, I. M. ZANUNCIO, J.C. BRUGGER, B. P. SOARES, M. A. ZANUNCIO, A. J.V. WILCHEN, C. F. TAVARES, W. S. Seletividade dos compostos botânicos aos polinizadores *Apis mellifera* e *Trigona hyalinata* (Hymenoptera: Apidae). **Scientific reports**. Publicados:16 de março de 2020.
- SILVEIRA, D. C.; MARACAJÁ, P. B.; SILVA, R. A.; SOUSA, R. M.; SOTOBLANCO, B. Variações diurna e sazonal da defensividade das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.16, n.4, pág.925-934, out. /dez. 2015.
- SIMAS, N.K.; LIMA, E.C.; CONCEIÇÃO, S.R.; KUSTER, R.M.; OLIVEIRA FOLHO, A.M. **Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue- atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides**. *Química Nova*, v.27, n.1, pág.46-49, 2004.
- SIMÕES, C. M. O. SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. pág. 467-495. Porto Alegre. 2004.
- SILVA, S. M. de. Pitanga, areia – PB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, 2006.
- SVIECH, F. PIANOSKI, KE. BOMBARDELLI, M. C. M. KRUGER, L. R. BAINY, M. B. Biological Activity of Essencial oil of Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) Leaves. **Jornal: Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Chicago. 2019.
- SOUZA, A.B. A Africanização e os Novos Rumos da Apicultura Brasileira. Pesquisa Apicultura Sustentável. **Jornal dia de campo informação que produz**. 2010.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica e Sistemática**. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2005.
- SOARES, A. E. E. Abelhas africanizadas no Brasil: do impacto inicial às grandes transformações. **Anais da 64ª Reunião Anual da SBPC**, São Luís. 2012.
- SOARES, M. H. **Avaliação dos Efeitos do Imidaclopride, sobre o sistema nervoso de *Apis mellifera* Africanizada, através da expressão da proteína FOS**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro. 2009.
- TAUTZ, J. **O fenômeno das abelhas**. Porto Alegre: Artmed. 2010.

- TADTONG, S. Antimicrobial constituents and effects of blended eucalyptus, rosemary, patchouli, pine, and cajuput essential oils. **Natural Product Communications**, v. 11, n. 2, pág. 1934578X1601100234, 2016.
- TADEI, R. DOMINGUES, EC. C. MALAQUIAS, B. J. CAMILO, V. E. Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*. **Scientific reports**. March 2019.
- TRAYNOR, K. S. PETTIS, J. S. TARPY, D. R. MULLIN, C. A. FRAZIER, J. L. FRAZIER, M. VAN ENGELSDORP, D. In-hive Pesticide Exposome: Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States. **scientific reports**. 2016.
- THERNEAU, T. A Package for Survival Analysis in S_. version 2.38 (p. <https://CRAN.R-project.org/package=survival>). 2015.
- TSVETKOV, N. MADANI, B. KRIMUS, L. MACDONALD, SE. ZAYED, A. A new protocol for measuring spatial learning and memory in the honey bee *Apis mellifera*: effects of behavioural state and cGMP. **Insectes Sociaux**. V.66, Pág. 65–71. 2019.
- Teste OCDE Nº 213: Abelhas, Teste de Toxicidade Oral Aguda; OCDE: Paris, França, 1998.
- Teste OCDE Nº 214: Abelhas, Teste de Toxicidade de Contato Agudo; OCDE: Paris, França, 1998.
- TOSI, S. NIEH, JC. Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivanto®), on honeybees. **biological science**. V. 286.2019.
- TOMÉ, H. V. V. SCHMEHL, D. R. WEDDOW, A. E. GODOY, R. S. M. RAVAIANO, S. V. GUEDES R. N. C. MARTINS, F. G. ELLIS, J. D. Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees. **Environmental Pollution**. V. 256. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113420>
- ITAGIBA, M. G. O. R. **Noções básicas sobre criação de abelhas, instalação de um apiário, métodos de criação, colheita e extração de mel e polinização**. São Paulo. 1997.
- TRANCOSO, M.D. **Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano**. Rio de Janeiro: Práxis, v.5, n.9, 2013.
- TIETBOHL, L. A. MELLO, C. B. SILVA, L. R. DOLABELLA, I. B. FRANCO, T. C. ENRIQUEZ, J.J. Inseticida verde contra a doença de Chagas: efeitos do óleo essencial de *Myrciaria floribunda* (Myrtaceae) no desenvolvimento de ninfas de *Rhodnius prolixus*. **Journal of Essential Oil Research**. Ed.1. V. 32, 2020.
- TISON, L. HAHN, M. L. HOLTZ, S. ROBNER, A. GREGGERS, U. BISCHOFF, G. O comportamento das abelhas é prejudicado pela exposição crônica ao neonicotinoide tiaclopride no campo. **Ambiente. Sci. Tecnol**. 2016. Doi: 10.1021/acs.est.6b02658
- TOSI, S. BURGIO, G. NIEH, C. J. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. **Scientific reports**. 2017.
- TOSI, S. NIEH, JC. Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivanto®), on honeybees. **Biological sciences**. Proc. R. Soc. 2019. <http://doi.org/10.1098/rspb.2019.0433>
- TOMÉ, H. V. V. BARBOSA, W. F. MARTINS, G. F. GUEDES, R. N. C. Spinosad na abelha nativa sem ferrão *Melipona quadrifasciata*: lamentável toxicidade não-alvo de um bioinseticida. **Quimiosfera** 124, 103-109. 2015.
- ULZIBAYAR, D. BEGNA, T. BISLAT, D. JUNG, C. Longevity-enhancing Effects of Rosmarinic Acid Feeding on Honey bees (*Apis mellifera* L.) after Exposure to Some Pesticides Used in Strawberry

Greenhouse. **Journal of Apiculture**. 2022.37(2): 135-141. DOI: 10.17519/apiculture.2022.06.37.2.135

VANCE, J. T. WILLIAMS, J. B. ELEKONICH, M. M. ROBERTS, S. P. The effects of age and behavioral development on honey bee (*Apis mellifera*) flight performance. **J Exp Biol**. 212 (16): 2604–2611. 2019. <https://doi.org/10.1242/jeb.028100>

VANENGELSDORP, D. EVANS, J. D. SAEGERMAN, C. MULLIN, C. HAUBRUGE, E. NGUYEN, K. B. FRAZIER, M. FOSTER, D. C. CHEN, Y. UNDERWOOD, R. TARPY, D. R. PETTIS, J. S. Colony collapse disorder: A descriptive study. **PLoS ONE**, v. 4, n. 8, 2009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>

VANENGELSDORP, D. UNDERWOOD, R. HAYES, J. Losses in the Winter of 2006 – 2007: A Report Commissioned by the Apiary Inspectors of America. **American Bee Journal**, n. September 2006, pág. 1–5. 2007.

VAN BEEK, T. A.; D. JOULAIN. The essential oil of patchouli, *Pogostemon cablin*: A review. **Flavour and Fragrance Journal**, v.33, n.1, pág.6-51. 2018. Available from: Accessed: Mar. 11, 2021.

VERONEZ, B. SATO, M. E. NICASTRO, R. L. Toxicidade de compostos e naturais sobre *Tetranychus urticae* e o predador *Phytoseiulus macropilis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, pág. 511-518, 2012.

VANBERGEN, A. J. Initiative I. P., Threats to an ecosystem service: Pressures on pollinators. **Front. Ecol. Environ** 11, 251–259. 2013.

VIEIRA, B. A. H. PRADO, J. S. M. NECHET, K. MORANDI, M. **Defensivos agrícolas naturais: usos e perspectivas**. Editora: Embrapa. 1ª edição. 2016. <https://www.researchgate.net/publication/312369126>

VICTORIA, F. N. LENARDÃO, E. J. SAVEGNAGO, L. PERIN, G. JACOB, R. G. ALVES, D. SILVA, W. P. MOTTA, A. S. NASCENTE, P. S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Toxicol**. 2012.

VICTORIA, F. N. BRAHM, A. S. SAVEGNANO, L. LENARDÃO, E. J. **Involvement of serotonergic and adrenergic systems on the antidepressant-like effect of *E. uniflora* L. leaves essential oil and further analysis of its antioxidant activity**. **Neurosci**. Pág. 105–109, 2013.

VILANI, A. **Atividade de produtos fitossanitários naturais sobre *Anticarsia gemmatalis* hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki* e seletividade a *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2013.

VASILIEV, D. GREENWOOD, S. Pollinator biodiversity and crop pollination in temperate ecosystems, implications for national pollinator conservation strategies: Mini review. **Science of The Total Environment**. V. 744. 2020.

WATSON, K.; STALLINS, J. A. Honey Bees and Colony Collapse Disorder: A Pluralistic Reframing. **Geography Compass**, v. 10, n. 5, pág. 222–236, 2016.

WINSTON, M. L. **The Biology of the Honey Bee**, Harvard University Press: Cambridge, Mass., 1987.

WINSTON, M. L. **A Biologia da abelha**. Porto Alegre: Magister, pág. 23-30. 2003.

WIESE, H. **Apicultura: novos tempos**. 2. ed. Guaíba: Agrolivros, 2005.

WRIGHT, G. A.; NICOLSON, S. W.; SHAFIR, S. Nutritional physiology and ecology of honey bees. **Annual Review of Entomology**, v. 63, pág. 327-344, 2018.

WIETZKE, A. WESTPHAL, C. GRAS, P. KRAFT, M. PFOHL, K. KARLOVSKY, P. PAWELZIK, E. TSCHAMTKE, T. Insect pollination as a key factor for strawberry physiology and marketable fruit quality, Agriculture, **Ecosystems & Environment**, V. 258. Pág. 97-204. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.01.036>.

WITTER, S. et al. **As abelhas e a agricultura**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014

WITTER, S. NUNES-SILVA, P. **Manual de Boas Práticas para o Manejo e Conservação de abelhas nativas (meliponídeos)**. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. 1ª Ed. Porto Alegre. 2014.

WILLIAMS, G. R. TARPY, D. R. VanENGELSDORP, D. CHAUZAT, M. P. COXFOSTER, D. L. DELAPLANE, K. S. NEUMANN, P. PETTIS, J. S. ROGERS, R. E. L. SHUTLER, D. Colony Collapse Disorder in contexto. **Journal BioEssays**, EUA, s. 32, pág. 845–846, 2010.

WILLIAMSON, S. M. et al. **Exposure to neonicotinoids influences the motor function of adult worker honeybees**, v. 23, n. 8, pág. 1409-1418. 2014.

WUEPPENHORST, K. ECKERT, H. STEINERT, M. ERLER, S. What about honey bee jelly? Pesticide residues in larval food jelly of the Western honey bee *Apis mellifera*. **Science of The Total Environment**. V. 850. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158095>

WERNECKE, A. ECKERT, J. H. FORSTER, R. KURLEMANN, N. ODEMER, R. Inert agricultural spray adjuvants may increase the adverse effects of selected insecticides on honey bees (*Apis mellifera* L.) under laboratory conditions. **Journal of Plant Diseases and Protection**. volume 129, pages93–105. 2022.

WILMART, O. LEGREVE, A. SCIPPO, M. L. REYBROECK, W. URBAIN, B. GRAAF, D. SPANOGHE, P. DELAHAUT, P. SAEGERMAN, C. Honey bee exposure scenarios to selected residues through contaminated beeswax. **Science of The Total Environment**. V. 772. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145533>

XAVIER, V. M.; MESSAGE, D.; PICANC, M. C.; CHEDIAK, M.; SANTANA JÚNIOR, P. A.; RAMOS, R. S. Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 1, pág. 1–6, 2015.

YANG, E. C. et al. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). **Journal of economic entomology**, v. 101, n. 6, pág. 1743-1748, 2008.

YOUNOUSSA, C. KENMOE, F. OUMAOUROU, M. K. BATTI, A. C. S. TAMESSE, J. L. NUKENINE, E. N. Efeito combinado de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Callistemon rigidus* (Myrtaceae) e *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) contra larvas de *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). **Revista Internacional de Zoologia**. 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4952041>

ZHANG, K. ELE, C. WANG, S. HOU, X. Influence of pollination methods on fruit development, fruit yield and oil quality in oil tree peony. **Scientia Horticulturae**. Volume 295, 15 March 2022.

ZIMMERMANN, M. KOGADEEVA, Z. WEGMANN, M. Mapeamento do metabolismo de drogas do microbioma humano por bactérias intestinais e seus genes. **Natureza** 570, 462-467. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1291-3>

ZHU, C. Y. CAREN, J. REDDY, VP. G. LI, W. YAO, J. Effect of age on insecticide susceptibility and enzymatic activities of three detoxification enzymes and one invertase in honey bee workers (*Apis mellifera*). **Toxicology & Pharmacology** Volume 238, December 2020.

ZHU, C. Y. CAREN, J. REDDY, V. G. LI, W. YAO, J. Efeito da idade na suscetibilidade a inseticidas e atividades enzimáticas de três enzimas de desintoxicação e uma invertase em operárias de abelhas (*Apis mellifera*). **Bioquímica e Fisiologia comparativa** Parte C: Toxicologia e Farmacologia. V. 238. 2020.

ZHU, Y. C. ADAMCZYC, J. RINDERER, T. YAO, J. DANKA, R. LUTTRELL. R. GORE, J. Spray Toxicity and Risk Potential of 42 Commonly Used Formulations of Row Crop Pesticides to Adult Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, Volume 108, Issue 6, December 2015, Pages 2640–2647, <https://doi.org/10.1093/jee/tov269>

APÊNDICE A - Tutorial para experimentos com abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada marcadas e não-marcadas

**Apêndice A: Tutorial para experimentos com abelhas campeiras *Apis mellifera* africanizada
marcadas e não-marcadas**

Abelhas campeiras marcadas	Alocar os quadros em colmeias distintas, instaladas em estruturas de madeira do tipo <i>Langstroth</i> ;
	Quando observado a presença de ovos nos quadros que foram alocados nas colmeias, contabilizar 19 dias. Dois dias antes do tempo necessário para as operárias emergirem.
	Em 19 dias, os quadros devem ser removidos do apiário, embrulhados em sacos de papel Kraft (60 × 70 cm com gramatura de 50 mm), selados, perfurados e transportados para o Laboratório e colocados em B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$) até a emergência das abelhas;
	Realize a higiene do local onde será realizado a marcação das abelhas recém-emergidas. Para que quando as abelhas retornarem para a colmeia de origem sejam aceitas pelas as demais abelhas;
	A marcação das abelhas campeiras <i>A. mellifera</i> é individualmente na parte superior do tórax e colocadas em gaiolas de tecido <i>voile</i> ; o marcador utilizado deve ser a base de água, atóxico e sem solventes, marca (Posca Apicultura);
	Ao realizar a marcação com o número de abelhas que serão utilizadas em experimento. As abelhas marcadas recém-emergidas devem ser transportadas para colônia de origem;
	Ao chegar na colônia, pulverizar uma solução (água com açúcar) sobre as abelhas marcadas, para que ocorra uma aceitação da colônia;
	Passados 21 dias (tempo de forrageamento) ocorre a coleta das abelhas campeiras marcadas;
	Os materiais (canos de PVC e tecidos <i>voile</i>) que são utilizados durante a coleta das abelhas campeiras marcadas devem ser esterilizados;
Em uma colônia, as operárias trabalham para manter uma temperatura entre 30 a 35 graus Celsius, nesse sentido, verifique a temperatura do ambiente no momento da coleta, pois se estiver frio pode ocorrer choque térmico;	
Por fim, ao coletar todas as abelhas campeiras marcadas, transporta-las para o laboratório, colocar na BOD ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$) e disponibilizar alimento (água com açúcar). Aguardar 24 horas, para ter certeza que todas estão saudáveis para realização dos experimentos;	
Abelhas campeiras Não-marcadas	No momento da coleta das abelhas marcadas, ocorre a coleta das abelhas não marcadas;
	Os materiais (canos de PVC, os tecidos <i>voile</i> e luvas) precisam estar esterilizados, para que as abelhas não se agitem;
	Em uma colônia, as operárias trabalham para manter uma temperatura entre 30 a 35 graus Celsius, nesse sentido, verifique a temperatura do ambiente no momento da coleta, pois se estiver frio pode ocorrer choque térmico;

	<p>O horário da tarde por volta das 15 horas é o horário ideal, pois as campeiras estão chegando com pólen e a temperatura esta de acordo com a da colônia;</p>
	<p>As abelhas <i>A. mellifera</i> campeiras precisam estar com pólen nas corbiculas, assim se tem certeza que elas estavam forrageando, isto é, buscando alimento para suprir as necessidades da colônia;</p>
	<p>As campeiras ao chegarem na colônia devem serem capturadas com a mão e inseridas nos canos de PVC e fechado com o tecido <i>voile</i>;</p>
	<p>Após coletar todas as abelhas <i>A. mellifera</i> campeiras não-marcadas que serão utilizadas no experimento, elas devem ser transportadas até o laboratório e inseridas na BOD ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$) e disponibilizar alimento (água com açúcar);</p>
	<p>Aguardar 24 horas, para ter certeza que todas estão saudáveis para realização dos experimentos;</p>