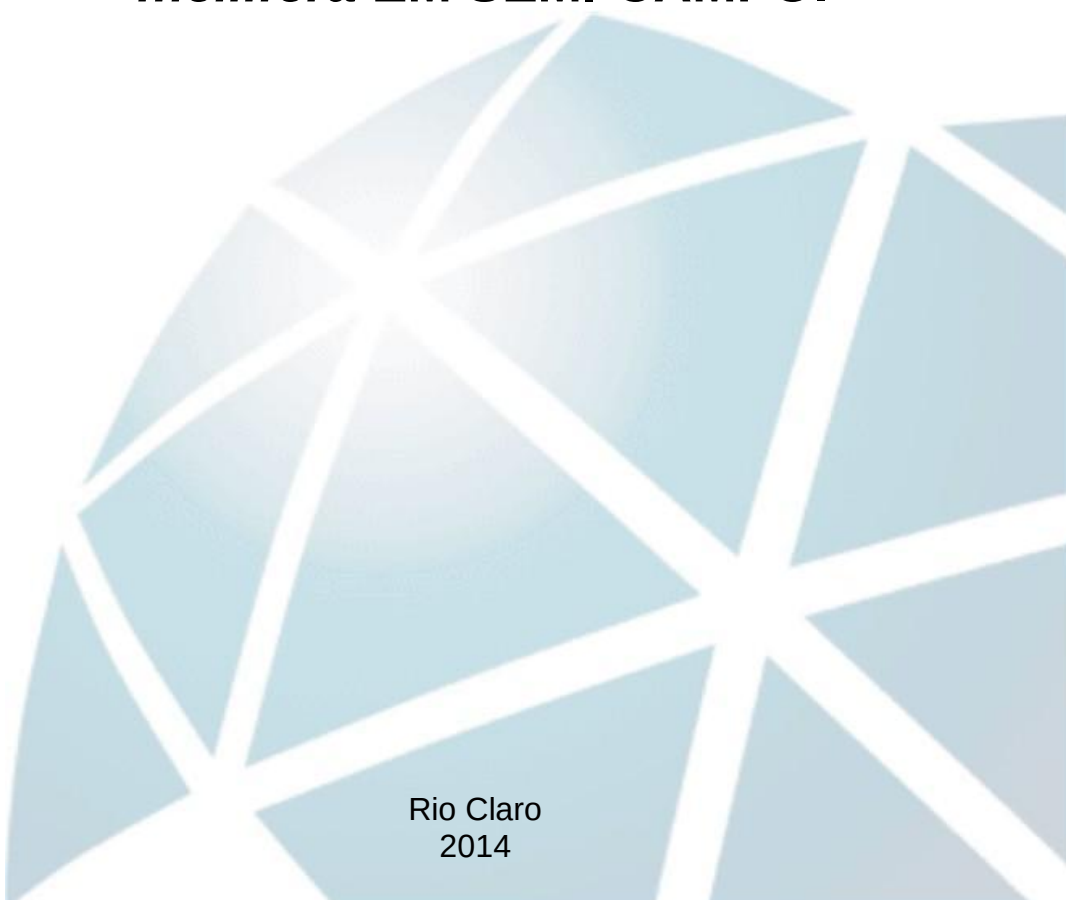

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAFAEL FÁVERO

**ESTUDO DE REPELÊNCIA COM
DIVERSOS PRODUTOS DE ORIGEM
NATURAL EM OPERÁRIAS DE *Apis
mellifera* EM SEMI-CAMPO.**



Rio Claro
2014

RAFAEL FÁVERO

**ESTUDO DE REPELÊNCIA COM DIVERSOS PRODUTOS DE ORIGEM
NATURAL EM OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* EM SEMI-CAMPO.**

Orientador: Prof. Dr. Osmar Malaspina

Co-orientador: Prof. Dr. Andriago Monroe Pereira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de bacharel e licenciado em Ciências Biológicas.

Rio Claro
2014

595.799 Fávero, Rafael
F273e Estudo de repelência com diversos produtos de origem
 natural em operárias de *Apis mellifera* em semi-campo /
 Rafael Fávero. - Rio Claro, 2014
 46 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e
bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual
Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro

Orientador: Osmar Malaspina

Coorientador: Andriago Monroe Pereira

1. Abelha. 2. Repelente. 3. Comportamento. 4.
Agressividade. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Osmar Malaspina, pela orientação, paciência, conhecimento e a oportunidade de trabalho no Centro de Estudos de Insetos Sociais, onde pude aprender o que é a ciência de fato, e o fantástico mundo das abelhas.

Ao Dr. Andriago Monroe Pereira, pela co-orientação e gigante apoio na confecção deste trabalho. Além disso, muito obrigado pela amizade e aconselhamento nestes anos de graduação.

A Dra. Priscila Cintra Socolowski, pela ajuda e correção deste trabalho nos momentos finais. Sem você, ele não teria sido finalizado. Muito Obrigado.

Ao Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) e ao Biotério da UNESP – Rio Claro, além de seus professores, funcionários e alunos, pelo apoio e a utilização das dependências e instalações para a realização deste trabalho. Em especial, ao técnico do Biotério, Antônio Sergio Pascon, pelo conhecimento adquirido no manejo de abelhas, além da amizade e risadas compartilhadas nestes anos.

Aos meus colegas de laboratório Rafael, Fellipe Chaves, Cintia, Rodrigo, Ellen, Alex, Marcela Bastos, Thais, Natália, Vivi e a todos os outros que encontrei em todos os dias de trabalho. Em especial, aos meus grandes amigos João, Marcela Cecatto e Itamar, obrigado pela amizade e ajuda sempre que precisei.

Ao CBN-09 pela amizade e companheirismo nestes anos de graduação, em especial, aos meus grandes amigos Henrique Kendi, Diego (Nega), Natália Marin (Devo minha graduação a você!), Natália Bernardi, Dayane, Priscila e Edgard (Rosca). Obrigado por todos os momentos juntos, jamais serão esquecidos.

Aos meus grandes irmãos por consideração, Renato e Regiane, por todos esses anos de amizades, risadas, convivência e serem tão especiais pra mim quando eu mais precisei.

Ao meu casal de amigos de longa data, Mauricio e Lauren, pelo apoio e companheirismo ao longo desses anos, e por serem pais da criança mais linda do mundo, o Dudu.

Aos amigos e colegas que conheci em Rio Claro, sejam alunos da UNESP ou não, em especial Antonio Couto, Glauber (Verde), Rafael (Lindão), Tiagão, Danilo

(Sujos), Marcelo (Carreto) dentre tantos outros. Obrigado pelos bons momentos.

Aos meus amigos de longa data em Socorro, Vergal, Tiago, Henrique (ET), Mateuzão, Michael, Arthurzão, Felipe, Otávio, Wellington, Francis, Charlinho, Gustavão (Obrigado pelas traduções!) e Ivan. Superar meus problemas nunca teria sido tão fácil sem vocês ao meu lado.

Aos meus pais, os melhores e mais batalhadores do mundo, Gilberto e Rosineia, aos meus avôs Romeu, Dirce e Jovino, e aos meus tios Roberto e Rosiane. Obrigado por sempre acreditarem em mim, pela educação que me deram e pela forma que me ensinaram a encarar a vida. Serei eternamente grato.

A Fernanda Añez, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis da minha vida, que foram os que antecederam a entrega deste trabalho, me animando sempre que precisei com todo o carinho do mundo. Muito Obrigado.

A Fundunesp pelo apoio financeiro, e a Universidade Estadual Paulista – UNESP, pela minha formação acadêmica e por ser parte do que sou hoje.

RESUMO

Acidentes por insetos da ordem Hymenoptera ocorrem com frequência em seres humanos e animais domésticos e, no Brasil, incluem principalmente agravos com abelhas africanizadas (*Apis mellifera*). O aumento do desmatamento e a falta de conscientização são fatores importantes que contribuem para o aumento do número de abelhas em ambientes urbanos. Este fato vem causando vários transtornos à população, pois, uma vez incomodados, esses insetos tornam-se agressivos. Considerando-se os riscos à população e o grande número de acidentes que poderiam ser evitados, é de extrema importância que sejam desenvolvidas pesquisas que objetivem encontrar substâncias repelentes. Sendo assim, este estudo avaliou a ação repelente de óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), capim limão (*Cymbopogon citratus*), tomilho (*Thymus vulgaris*), cedro (*Juniperus virginiana*), cravo (*Syzygium aromaticum*) e hortelã (*Mentha piperita*) sobre operárias de *A. mellifera* africanizadas em testes de semi-campo e testes de agressividade. Entre os compostos avaliados, os óleos essenciais de capim limão, hortelã e cravo apresentaram o maior efeito repelente, inibindo quase completamente a visita das abelhas aos alimentadores tratados. O óleo essencial de cedro foi o composto que apresentou menor efeito repelente, sendo que os demais óleos testados apresentaram repelência satisfatória, que se tornava menos eficaz ao longo do tempo, segundo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Entretanto, nos testes realizados a posteriori, apenas o óleo essencial de capim limão ocasionou menor agressividade das abelhas, quando comparadas ao controle, o que pode confirmar o poder repelente deste composto. Desta forma, segundo os resultados obtidos nesse estudo, o capim limão apresenta maior potencial para o desenvolvimento de formulações repelentes para abelhas africanizadas (*Apis mellifera*).

Palavras chave: Óleos essenciais, *Apis mellifera*, Repelência, Comportamento, Agressividade.

ABSTRACT

Accidents involving insects of the Hymenoptera order occur very often with both human beings and domestic pets and, in Brazil, they include aggravated cases with Africanized bees (*Apis mellifera*). The aggravation of deforestation and the lack of awareness regarding the subject are factors that contribute to the rise of the number of bees in the urban environment. This fact has been causing several derangements among the population because, once these insects are bothered, they become very aggressive. Considering the risks to population and the great amount of accidents that could be avoided, the development of researches with the goal of determining repelling substances is rather important. Therefore, this research evaluated the repelling action of essential natural oils obtained from rosemary (*Rosmarinus officinalis*), lemongrass (*Cymbopogon citratus*), thyme (*Thymus vulgaris*), cedar (*Juniperus virginiana*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha piperita*) on *A. mellifera* Africanized worker bees in both semi-field and aggressiveness tests. Among the evaluated composites, the lemongrass, mint and clove essential natural oils presented a greater repelling effect, inhibiting the bees' visitation to the managed feeders almost completely. The cedar essential natural oil was the least effective composite, and the rest of the tested oils presented satisfactory repellency, which became less effective over time, according to non-parametric Mann-Whitney test. However, further tests showed that only the lemongrass essential natural oil caused a less aggressive response from the bees, which can confirm the repelling power of this composite. This way, according to the results obtained through this research, lemongrass presents a greater potential to the development of effective repelling formulas against Africanized bees (*Apis mellifera*).

Key words: Essential natural oils, *Apis mellifera*, Repellency, Behavior, Aggressiveness.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
1.1.Abelhas africanizadas: introdução da espécie no Brasil, biologia e riscos de acidentes.	7
1.2.Óleos essenciais e efeito repelente para insetos	11
1.3.Agressividade em abelhas	13
2. OBJETIVOS	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1.Produtos Utilizados.	16
3.2.Teste de Repelencia: Construção dos Alimentadores, Preparo dos Bioensaios e Aplicação dos Produtos	16
3.3.Teste de Agressividade.....	17
3.4.Coleta dos Dados e Análise Estatística.....	18
4. RESULTADOS	20
4.1.Óleo essencial de alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	20
4.2.Óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon citratus</i>).	22
4.3.Óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>).....	24
4.4.Óleo essencial do cedro (<i>Juniperus virginiana</i>).	26
4.5.Óleo essencial de cravo (<i>Syzygium aromaticum</i>)	28
4.6.Óleo essencial de hortelã (<i>Mentha piperita</i>).....	30
4.7.Testes de agressividade com óleos essenciais de capim limão, cravo e hortelã.....	32
5. DISCUSSÃO.....	35
6. CONCLUSÃO	39
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. Abelhas africanizadas: introdução da espécie no Brasil, biologia e riscos de acidentes.

As abelhas africanizadas surgiram no Brasil na década de cinquenta, resultante da hibridização das abelhas africanas (*A.mellifera. adansonii*) introduzidas no país, com as européias (*A. mellifera scutellaris*) já existentes no país (OLIVEIRA, 2000). A introdução de uma nova espécie resultou da pressão exercida por diversas entidades envolvidas com as práticas apícolas, que manifestaram seu descontentamento com a baixa produtividade das abelhas já introduzidas (*A. mellifera ibericae*, *A. mellifera mellifera*) e da dificuldade em “italianizar” nossas abelhas (KERR, 1967).

Rainhas de abelhas africanas foram trazidas para o Brasil e alojadas nas proximidades da cidade de Rio Claro – SP para a realização de testes sobre a potencialidade da produção de mel das novas colônias. Entretanto, de forma acidental essas abelhas escaparam de seus ninhos e iniciou-se então uma rápida expansão, ocasionando cruzamentos com as subespécies européias pré-introduzidas, que eram mantidas principalmente em apiários, resultando em um poli-híbrido (KERR, 1967) que foi posteriormente chamado de abelha africanizada (GONÇALVES, 1974).

Pouco a pouco, os apicultores se conscientizaram que essas abelhas poderiam ser controladas e exploradas com êxito (SOARES, 1998). Atualmente, a apicultura brasileira se caracteriza por ser mais moderna, atualizada e com uma significativa preferência dos apicultores pelas abelhas africanizadas (TOLEDO *et al*, 2004).

Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) são importantes produtoras de mel, cera, e outros produtos (BROMENSHENK *et al*, 1996). Além disso, são importantes polinizadoras de diversos cultivos, contribuindo para a manutenção das plantas nativas (MALASPINA & ZACARIN, 2006) e sendo fundamental na condução de muitas culturas agrícolas (WILLIAMS *et al*, 1991; SHEPHERD *et al*, 2003). Embora muitos grupos de insetos sejam conhecidos como polinizadores, as abelhas constituem, provavelmente, o grupo mais importante em número e diversidade (BAWA *et al*, 1985), o que está

relacionada à sua dependência das flores para obtenção de recursos alimentares adultos, ao seu comportamento de forrageamento e constância floral (CORBET *et al*, 1991).

Na colméia de abelhas africanizadas existem em média 50 a 60 mil indivíduos, sendo uma única rainha, algumas centenas de zangões (0 a 400) e milhares de operárias, todas fêmeas.

A rainha não possui ferrão, somente ovipositor, pois é a única fêmea fértil da sociedade, que após a fecundação armazena os espermatozóides de vários zangões e coloca cerca de 1.000 a 2.000 ovos diariamente, sendo limpa e alimentada pelas operárias. A rainha pode viver de 3 a 4 anos, embora viva em média aproximadamente 1 ano. Os zangões não possuem ferrão e são os machos da colméia, que se originam de ovos não fecundados. Assim como a rainha, são limpos e alimentados pelas operárias. Vivem em média 80 dias e morrem após a cópula (CORBET *et al*, 1991).

As operárias exercem todas as atividades da colméia: alimentação das larvas, limpeza e construção de favos, produção de mel e própolis, defesa, coleta de pólen e néctar. Vivem em média 45 dias, alimentam-se de néctar e de pólen, assim como as larvas, exceto aquelas que darão origem à rainha, as quais são alimentadas com geléia real.

Durante a defesa, as operárias injetam o veneno, utilizando-se do ferrão, que fica preso à vítima juntamente com as vísceras e a glândula de veneno, garantindo assim maior dosagem injetada e aumentando a eficácia da ação defensiva. Esse processo de perda do ferrão e partes anexas resulta na morte do inseto, que só ferroa uma vez. Os indivíduos de espécies que não possuem, ou que tem poucas farpas nos seus ferrões, podem ferroar suas vítimas mais de uma vez, pois o ferrão pode ser retirado e introduzido várias vezes, como nas vespas, por exemplo (WINSTON, 2003).

As abelhas da espécie *Apis mellifera*, conhecidas popularmente por abelhas africanizadas ou abelhas de mel, são mais defensivas e enxameiam várias vezes ao ano, utilizam-se de uma grande variedade de locais para nidificação, comportamento relacionado ao aumento de número de acidentes devido à existência de uma variedade de abrigos, que aumentam o contato entre insetos e a população (WINSTON, 2003).

A abelha africanizada apresenta duas formas de dispersão, os quais têm

favorecido a sua sobrevivência e expansão. Quando há muito alimento, formam-se os enxames reprodutivos quando a população aumenta formando uma nova rainha e parte das abelhas voa com a rainha mais velha em busca de um novo local para a nidificação. No período de escassez de alimento, condições climáticas desfavoráveis e predação formam-se os enxames de abandono, quando todas as abelhas migram para outro local.

Os enxames normalmente não apresentarão agressividade se não sofrerem perturbações. O enxame realiza pausas para descanso, formando grupamentos de abelhas sobre a rainha, enquanto algumas operárias procuram um abrigo definitivo como buracos em árvores, rachaduras nos muros e paredes, forros de telhado, caixotes, móveis vazios e outros para a formação da nova colméia.

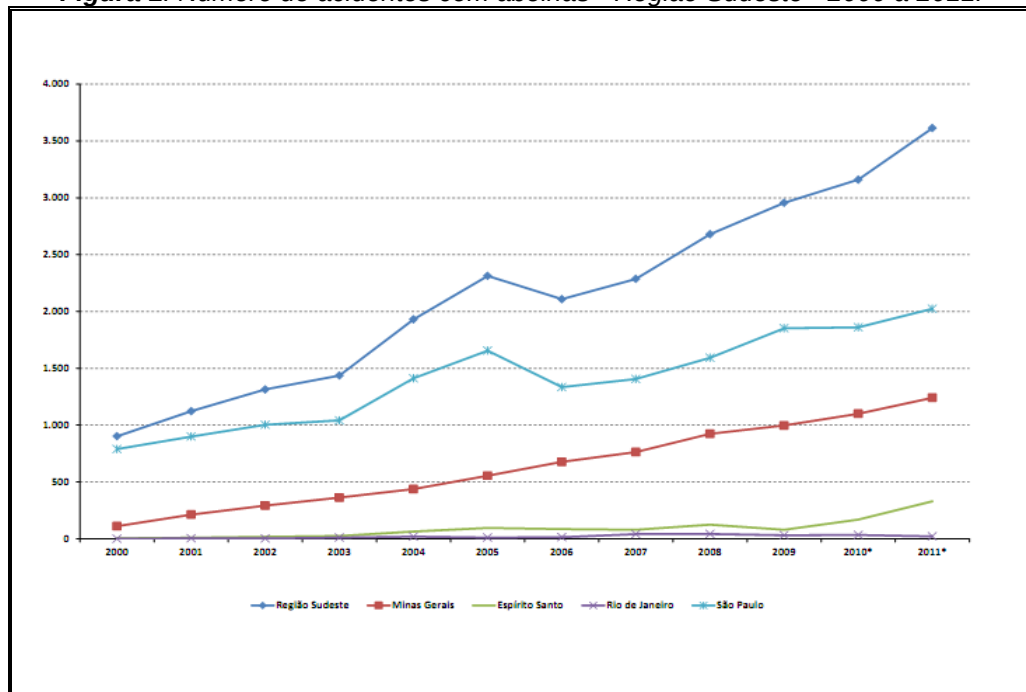
Apesar dos benefícios proporcionados pelas abelhas ao homem, a preocupação com acidentes está associada à frequência de enxameações, que ocorrem de três a quatro vezes ao ano (DINIZ, 1990), e à variedade de abrigos em áreas urbanas. Tais abrigos aumentam o contato entre o inseto e a população. Situações de contato direto normalmente ocorrem quando, inadvertidamente, pessoas manipulam as proximidades ou os locais onde estão situados os abrigos, atiram objetos e produtos químicos, tentam remover ou destruir os abrigos sem proteção adequada ou, ainda, no contato eventual com um único inseto. As abelhas africanizadas se caracterizam por serem muito agressivas e atacar as suas vítimas em enxames, inoculando grande quantidade de veneno (BARRAVIEIRA, 1999; DINIZ FILHO, 1995).

Desde 1993, as abelhas foram incluídas como “animal agressor” na ficha de investigação de acidentes por animal peçonhento do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) “Prof. Alexandre Vranjac”, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. De 1993 a 1997, o CVE registrou 30.292 notificações de acidentes com animais peçonhentos no Estado de São Paulo. Delas, na média para todo o período, 6,3% ocorreram por causa de himenópteros, dos quais 89,7% eram abelhas africanizadas (dados de 1994 a 1997, pois em 1993 não se tem informações sobre a espécie) (SUS, 2012).

Entre os anos de 2000 a 2012 houve um aumento de mais de 200% nos casos de acidentes com abelhas na região sudeste (Figura 1), sendo os estados de São Paulo

e Minas Gerais os com maiores índices nessas regiões (SUS, 2012)

Figura 1: Número de acidentes com abelhas - Região Sudeste - 2000 a 2011.



Fonte: Portal da Saúde (SUS, 2012)

O crescimento do desmatamento e a falta de conscientização são fatores importantes que contribuem para o aumento do problema, visto que, todos os anos um grande número de enxames antes encontrados em seu habitat natural estão se alojando no perímetro urbano. Este fato vem causando vários transtornos à população, pois, uma vez incomodados, esses insetos tornam-se agressivos, oferecendo risco de acidente aos seres humanos e animais localizados nas proximidades (FREITAS, 2009). Considerando os riscos à população e o grande número de acidentes que poderiam ser evitados, é de extrema importância que sejam desenvolvidas pesquisas que objetivem determinar substâncias repelentes que possam ser utilizadas como alternativas ao controle de tal problema em áreas urbanas.

1.2. Óleos essenciais e efeito repelente para insetos

Os óleos essenciais ocupam um lugar de destaque na indústria de defensivos agrícolas, uma vez que apresentam propriedades fungicidas e inseticidas contra pragas que causam prejuízos aos agricultores, acarretando perdas na produtividade e qualidade das culturas (SIMÕES *et al*, 2004).

Apresentam uma incrível gama de vantagens quando comparados com produtos de origem sintética, pois são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente volatizados. Entretanto, o desenvolvimento destes compostos necessita de pesquisas mais profundas que possam definir uma maior seletividade contra inimigos naturais, além de baixa toxicidade em mamíferos e vantagens econômicas para que sua produção em larga escala seja viável (VIEIRA *et al*, 2001).

Segundo FARAG *et al* (1994), o óleo essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) causou redução no desenvolvimento e oviposição de lagartas *Spodoptera littoralis*, quando ingerido. MORSY *et al* (1998) observaram um poderoso efeito repelente para o óleo essencial de Tomilho quando aplicado em larvas (3º instar) de *Lucilia sericata*. Ambos atribuem tais efeitos à constituição do óleo, constituído principalmente de substâncias como eugenol e timol.

Cymbopogon citratus (D.C.) Stapf é uma espécie provinda da Índia e largamente distribuída por vários países tropicais, entre eles o Brasil, onde assume diferentes nomes populares conforme a região onde se encontra, sendo os mais comuns capim limão em Minas Gerais, capim santo na Bahia e erva-cidreira em São Paulo, dentre outros (COSTA *et al*, 2005). O óleo essencial desta espécie apresenta intensa atividade antibacteriana, graças, principalmente, aos componentes α - e β -citral (ONAWUNMI *et al*, 1984). Suas atividades antimicrobianas e fúngicas foram comprovadas em diversas espécies de microrganismos, além de propriedades inseticidas e repelente em insetos (SOUZA *et al*, 1991).

O Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é um arbusto originário da região do mediterrâneo, e comumente utilizado na culinária em diversas culturas. Seu óleo essencial é rico nos monoterpenos α e β -pineno, substância com grande potencial repelente em diversas espécies de insetos (HARBONE, 1993).

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) é uma espécie híbrida obtida do cruzamento entre *Mentha aquatica* e *Mentha spicata*. É utilizada como fármaco para diversos sintomas gripais e também como condimento por diversas culturas. Possui mentol, substância da classe dos terpenos originalmente extraída do óleo essencial desta espécie. Sabendo dessas propriedades, KUMAR *et al* (2011) verificou o potencial larvícida e repelente deste óleo sobre as larvas e adultos de *Aedes aegypti* e verificou um excelente poder repelente sobre o vetor da dengue. ANSARI *et al* (2008) também estudou tal efeito repelente, porém em espécies de *Anopheles stephensi* e *Culex quinquefasciatus*, e também observaram uma forte ação repelente quando aplicado sobre a pele humana.

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) apresenta propriedades antissépticas, sendo bastante utilizado na odontologia, além de ser um tempero comum na culinária de diversas culturas. Várias substâncias contidas no óleo essencial desta espécie contem propriedades repelentes e inseticidas. Segundo LUCCA (2009) os extratos metanólico e hexânico do *S. aromaticum* apresentam repelência contra o gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) e o eugenol tem efeito contra a forma adulta do *S. zeamais*. Também foi verificada a atividade inseticida do eugenol contra o *Aedes aegypti* e diversas outras espécies de dípteras, além de efeito repelente contra o inseto infestante em bananeiras (*Cosmopolites sordidus* (Germar)) de 60 a 80% de efetividade (CHAIIB *et al.* 2007).

O óleo essencial de cedro (*Juniperus virginiana*) foi pouco estudado em relação a sua atividade repelente ou antibacteriana, porém é rico em álcoois, fenóis, ésteres, ácidos, aldeídos e terpenos, que são moléculas com grande potencial para tais características (COSTA, 1994).

Muitas situações demonstram que a repelência das abelhas é necessária, mesmo que seja por um determinado tempo. Como exemplos podem ser citados a cultura de maracujá, onde as abelhas *A. mellifera* são consideradas praga, em certas regiões (SALIS, 1987), em cochos de bovinos alimentados com cana-de-açúcar picada, em docerias, sorveterias, fábricas de refrigerantes e mesmo associado com o uso de pesticidas, para evitar a sua mortalidade e a contaminação do mel (MALERBO-SOUZA, 1998)

Segundo TAJUDDIN *et al.* (2004), os óleos essenciais que possuem os melhores resultados como repelentes são: citronela, cravo, verbena, cedro, lavanda, pinho, canela, alecrim, manjerição, pimenta e pimenta da jamaica. Sendo assim, vários estudos demonstram que os óleos essenciais podem ser repelentes de insetos. Fundamentado nesses resultados e buscando avaliar produtos apontados segundo a cultura popular, alguns óleos foram selecionados para a realização de bioensaios de avaliação da repelência para abelhas africanizadas e experimentos que verificam se tais compostos aumentam a agressividade das abelhas, provocando ataque.

1.3. Agressividade em abelhas

A agressividade em abelhas é bastante variável e depende diretamente de uma série de fatores, principalmente o hereditário, ou seja, a raça, espécie, tipo de mestiçagem ou de hibridação das abelhas (VIEIRA, 1992). A raça possui um efeito de grande relevância, assim como demonstrado nos testes de agressividade desenvolvidos pelo Prof. Dr. Antônio Carlos Stort, com abelhas africanizadas, que demonstraram que elas são mais agressivas que as italianas (COUTO & COUTO, 2002).

Acredita-se que o processo de hibridização e os sucessivos cruzamentos entre africanas e abelhas européias, bem como de seleção que os apicultores vêm fazendo durante todos esses anos, escolhendo as abelhas e as famílias mais mansas garantiram uma diminuição da agressividade das abelhas (VIEIRA, 1992).

Várias condições, além dos fatores genéticos, podem aumentar a agressividade das abelhas, dentre os quais podem ser considerados a movimentação nas proximidades da colméia, objetos ou roupas de lã felpudas, fatores climáticos como: vento, chuvas e tempo instável. Dentre os fatores fisiológicos podem ser citados a idade da operaria, pois quanto mais velha maior a sensibilidade ao feromônio de alarme e é conhecido que as operárias poadeiras são mais agressivas (COUTO & COUTO, 2002).

Odores diferentes dos habitualmente identificados pelas abelhas, como os de perfume, desinfetantes e determinadas cores como preto e marrom também podem ocasionar aumento de agressividade. A falta de habilidade em manejar as abelhas ou a

colméia, lidar com as colméias em dias impróprios, ficar na linha de vôo das abelhas em frente ao alvado, justamente quando elas, carregadas e já cansadas, tentam voltar à colméia são fatores que podem desencadear ataques. Além destes, podem ser acrescidos a presença de animais perto do apiário, fazer um número excessivo de revisões, excesso de fumaça ou sua aplicação incorreta (VIEIRA, 1992).

Por outro lado, a agressividade das abelhas é considerada por muitos apicultores como uma qualidade, porque pode evitar roubo da sua produção e as abelhas africanizadas são mais tolerantes a várias pragas e doenças que são observadas em outros países, mas não têm acarretado impacto econômico na apicultura nacional.

2. OBJETIVOS

Avaliar a ação repelente e a agressividade observada nas abelhas africanizadas perante os seguintes óleos essenciais: capim limão (*Cymbopogon citratus*), cravo (*Syzygium aromaticum*), tomilho (*Thymus vulgaris*), cedro (*Juniperus virginiana*), hortelã (*Mentha piperita*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Produtos Utilizados

Foram analisados os óleos essenciais de capim limão (*Cymbopogon citratus*), cravo (*Syzygium aromaticum*), tomilho (*Thymus vulgaris*), cedro (*Juniperus virginiana*), hortelã (*Mentha piperita*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), todos produzidos para livre comércio pela empresa “Quinari® Casa das Essências”. Eles são utilizados popularmente como óleos para banhos e massagens terapêuticas, dentre outras finalidades. Esses óleos não apresentam prazos de validade se bem estocados (abrigados da luz solar e umidade), e foram utilizados em sua concentração pura, segundo o fabricante, sem nenhuma diluição posterior em laboratório.

3.2. Testes de Repelência: Construção dos Alimentadores, Preparo dos Bioensaios e Aplicação dos Produtos

Foram projetados alimentadores, em triplicata, que consistiam de um frasco de vidro contendo 30 mL de mel em seu interior emborcado em um vidro de relógio e posicionados sobre suportes de madeira, e colocados a uma equidistância de 40 cm do ninho de abelhas. Esses alimentadores foram instalados no apiário da UNESP – Campus de Rio Claro - SP, em locais sombreados por árvores, durante os meses de dezembro de 2013 a abril de 2014, sempre entre o período das 09h00min às 16h00min, em dias ensolarados, sem que houvesse chovido no dia anterior. Foram utilizados sempre os mesmos ninhos e as mesmas condições citadas, para que não houvesse grandes divergências dos dados coletados.

Para a realização dos testes foi realizado um preparo, que consistiu na montagem dos alimentadores, e no aguardo até que as abelhas em forrageamento os encontrassem e começassem a coleta. Após algumas horas, quando os alimentadores se encontrassem encobertos pelas abelhas, sem que fosse possível sua visualização, os bioensaios eram iniciados.

Para início dos bioensaios foram aplicadas as substâncias com auxílio de um cotonete embebido, até que todo o frasco contendo mel e o vidro relógio fossem

encobertos pelos produtos (Alimentadores 1 e 3, vide **figura 2**), sendo utilizados em torno de 5 ml por alimentador. O alimentador central, onde não foi impregnada nenhuma substância, foi utilizado como grupo controle. Cada bioensaio foi repetido 10 vezes, sempre aplicando cada produto de forma seqüencial.

Figura 2: Alimentadores montados para o Teste de Repelência no Apiário da UNESP - Rio Claro. Os alimentadores 1 e 3 correspondem aos grupos teste, e o alimentador 2 ao grupo controle.



3.3. Teste de Agressividade

Neste experimento, as três substâncias com melhores resultados repelentes, ou seja, que permitiram menor número de abelhas observadas nos alimentadores, foram avaliadas novamente em condições de campo, utilizando-se uma adaptação da metodologia desenvolvida por STORT (1974) para quantificar a capacidade defensiva das abelhas, conhecida como teste de agressividade.

O teste consistiu em balançar na frente da entrada da colônia, durante 60 segundos e simultaneamente, duas bolinhas (experimental e controle) confeccionadas de camurça preta (preenchidas de algodão) com 2 cm de diâmetro para estimular o ataque das abelhas. A bolinha experimental foi embebida com 10 ml da substância testada e a bolinha controle apenas com água. Registrou-se o número de ferrões

deixados pelas abelhas na camurça em 1 minuto e o tempo até o primeiro ataque.

Figura 3: Teste de Agressividade sendo realizado no Apiário da UNESP – Rio Claro.



Figura 4: Bolinhas de camurça utilizadas para o Teste de Agressividade.



3.4. Coleta dos Dados e Análise Estatística

Após a aplicação dos produtos no Teste de Repelência, foram realizadas

fotografias, com uma Câmera Digital Sony Cyber Shot®1 6.1 megapixels, a cada 10 minutos de uma distancia aproximada de 30 cm dos alimentadores, sempre na mesma posição, a 45° em relação a eles. Este procedimento foi repetido por 10 vezes para cada bioensaio.

A contagem das abelhas ocorreu visualmente através das fotos, sendo consideradas todas as abelhas que estavam no alimentador, e um número sempre aproximado dessa contagem, foi utilizado para análise. Os dados de todas as repetições foram somados e tabelados, e posteriormente analisados pelo programa computacional de análises estatísticas *Bioestat* 5.0 (2007), com a utilização do teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney, que apontou como considerável para todos os testes realizados e gerou os gráficos.

No Teste de Agressividade, a contagem ocorreu visualmente através do número de ferrões encontrados em cada bolinha. Os dados de todas as repetições foram tabelados e também analisados pelo programa computacional de análises estatísticas *Bioestat* 5.0 (2007), com a utilização do teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney, que definiu se os resultados foram significativos ou não. As tabelas e gráficos para este bioensaio foram geradas pelo software *Microsoft Office Excel* 2007.

4.

RESULTADOS

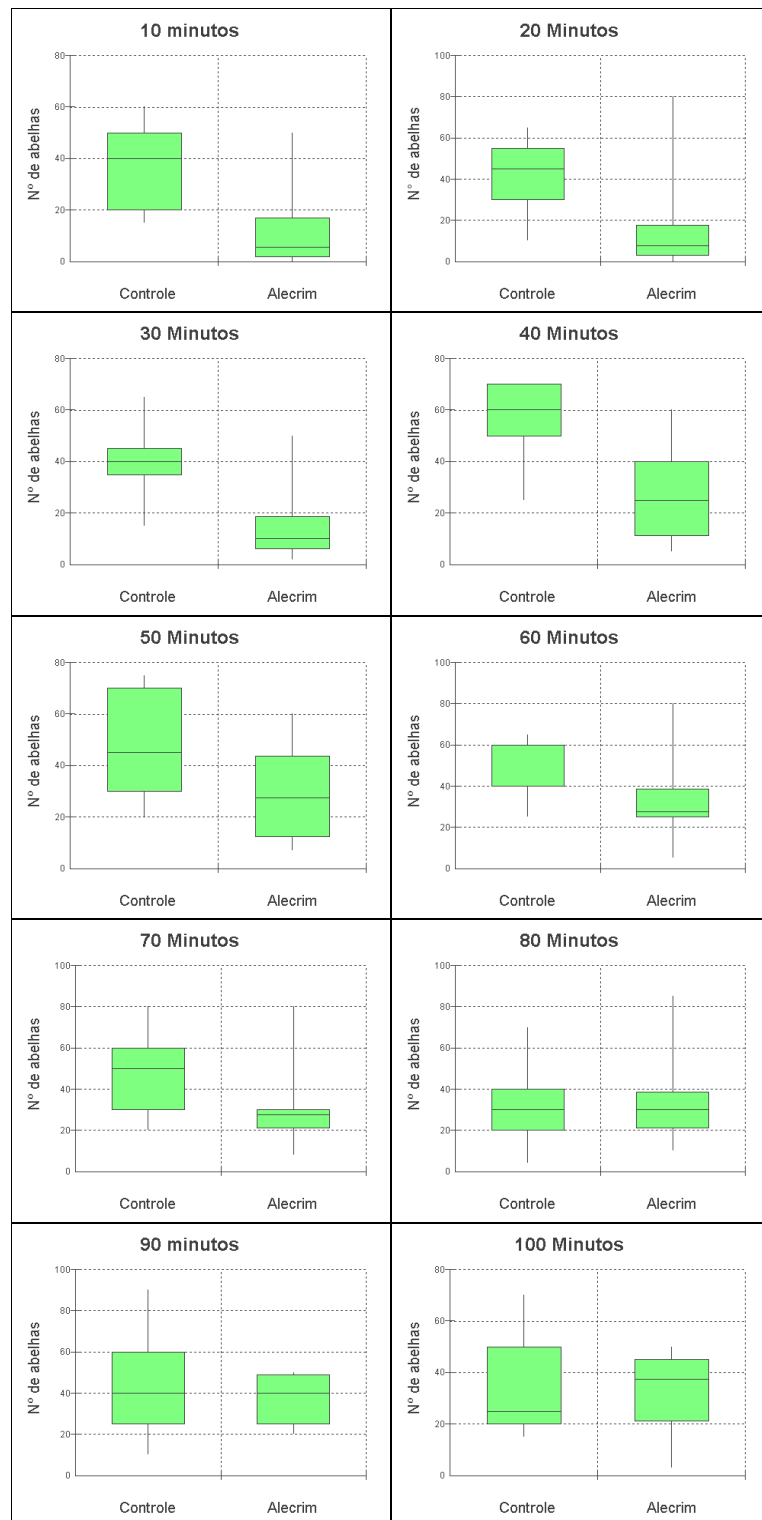
4.1. Óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*)

O óleo essencial de alecrim mostrou efeito repelente durante os primeiros 40 minutos de análise, resultando graficamente nas medianas que se mostraram distantes. Após esse período, os resultados obtidos para o grupo controle e o grupo tratado se aproximaram, mas continuaram com valores significativos, até que no tempo 80 minutos, o valores estatísticos não são significativos (Tabela 1), mostrando que o óleo essencial de alecrim perde seu efeito repelente após esse intervalo de tempo na maioria dos testes realizados.

Tabela 1: *Dados estatísticos para o teste de repelência para o óleo essencial de Alecrim.*

Tempo (min.)	Valor "Z"	Valor "p"
10	2,7213	0,0065
20	2,4946	0,0126
30	1,7386	0,0821
40	2,5702	0,0102
50	1,7386	0,0821
60	1,7386	0,0821
70	1,8142	0,0696
80	0,0512	0,8798
90	0,4536	0,6501
100	0,3024	0,7620

Figura 5: Efeito do óleo essencial de alecrim para abelhas africanizadas durante a realização do bioensaio de repelência.



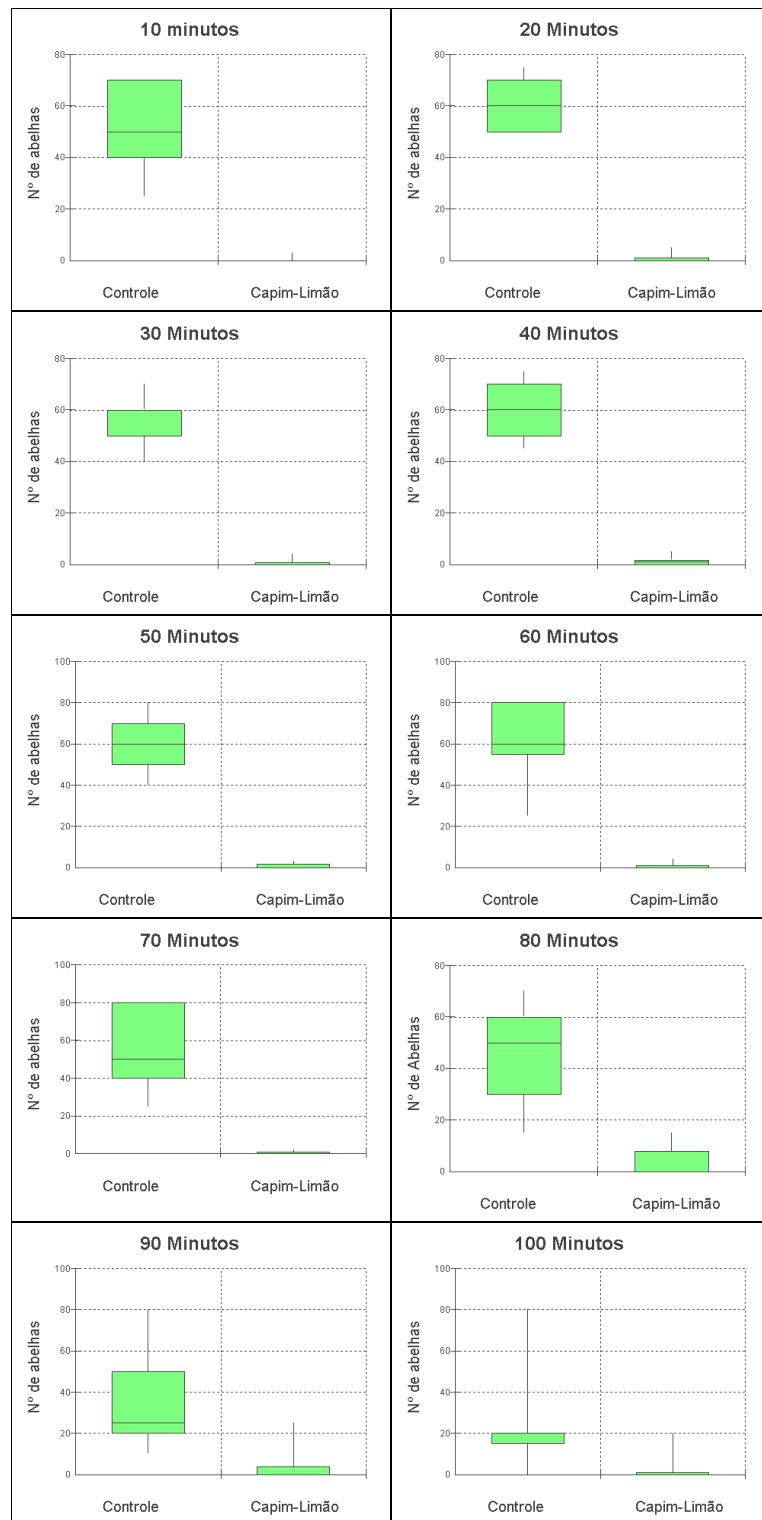
4.2. Óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*).

O óleo essencial de capim limão mostrou-se um eficaz repelente contra abelhas, sendo que durante todo o bioensaio repeliu as abelhas de forma bastante significativa (Tabela 2), alcançando durante todo o período avaliado repelência suficiente para manter o número de abelhas presentes no alimentador inferior a 20 indivíduos (Figura 6). O óleo testado manteve uma grande diferença em relação ao número de abelhas que visitaram o grupo controle (com exceção do tempo 100 minutos, quando a quantidade de abelhas no grupo controle caiu drasticamente, porém a média de abelhas do grupo teste continuou inferior). Pontos de maior e menor valor foram comuns nos resultados, principalmente no tempo de 80 minutos em diante, o que demonstra disparidade nos testes devido a condições abióticas, como citado anteriormente.

Tabela 2: *Dados estatísticos para o teste de repelência para o óleo essencial de Capim Limão.*

Tempo (min.)	Valor “Z”	Valor “p”
10	3,7796	0,0002
20	3,7796	0,0002
30	3,7796	0,0002
40	3,7796	0,0002
50	3,7796	0,0002
60	3,7796	0,0002
70	3,7796	0,0002
80	3,7041	0,0002
90	3,3261	0,0009
100	2,3434	0,0191

Figura 6. Gráficos indicando o efeito do óleo essencial de capim limão para abelhas africanizadas durante a realização do bioensaio de repelência.



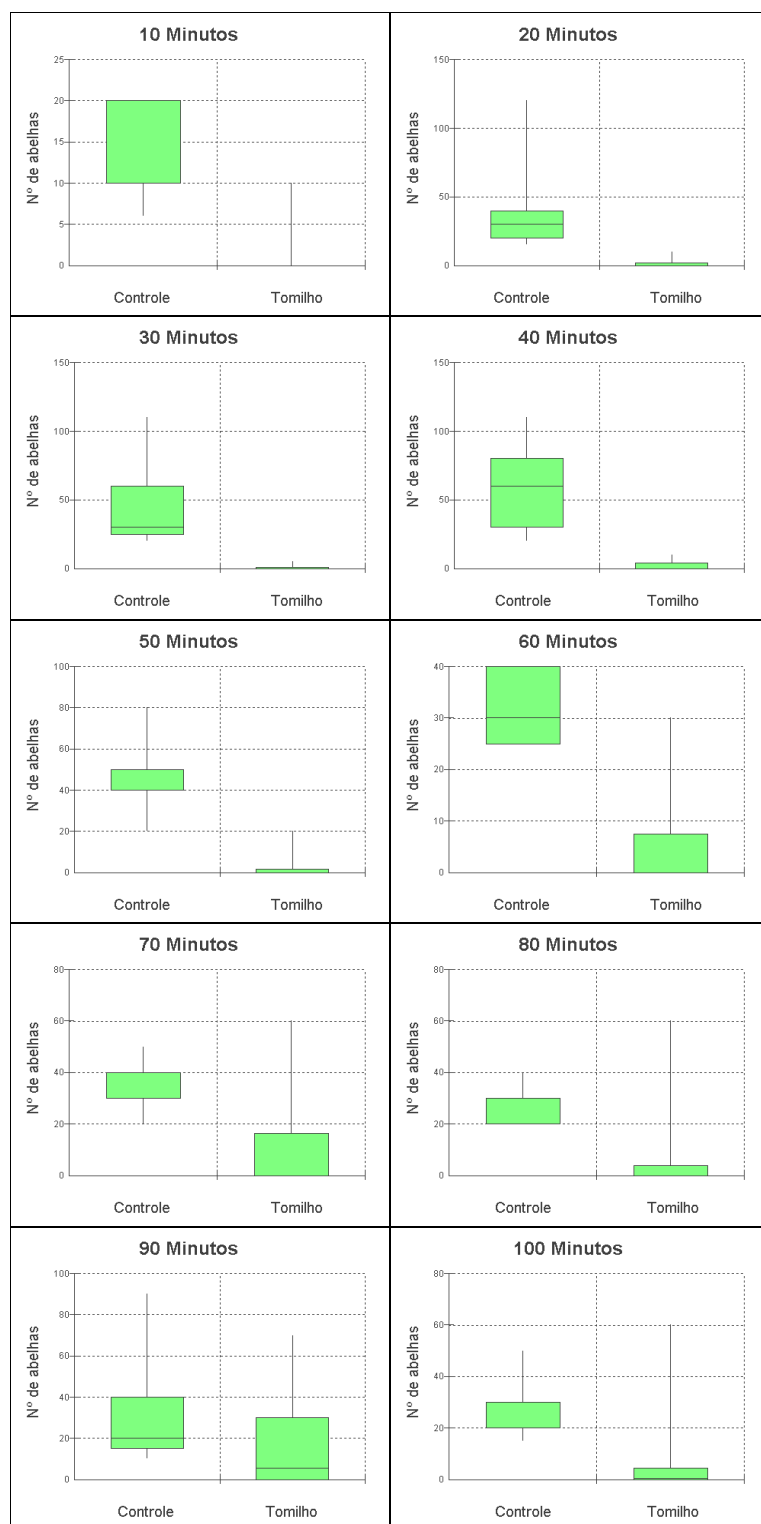
4.3. Óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*).

O óleo essencial de tomilho apresentou um efeito repelente significativo durante todo o bioensaio, e especialmente mais acentuado durante os primeiros 60 minutos de análise, como é possível observar na Figura 7. Após esse período, os valores apresentados no experimento tenderam a equiparar-se, o que pode ser explicado pela queda do poder repelente do Tomilho, o que faz com que parte das abelhas que frequentavam o grupo controle começasse a frequentar o grupo teste, causando a diminuição dos valores do primeiro e o aumento do segundo. Entretanto, estatisticamente os resultados continuaram a serem significativos como pode ser observado na Tabela 3 e tal efeito prosseguiu até o final do experimento.

Tabela 3: Dados estatísticos para o teste de repelência para o óleo essencial de tomilho.

Tempo (min.)	Valor “Z”	Valor “p”
10	3.4773	0.0005
20	3.7796	0.0002
30	3.7796	0.0002
40	3.7796	0.0002
50	3.7041	0.0002
60	3.4017	0.0007
70	2.4190	0.0156
80	2.2678	0.0233
90	1.5875	0.1124
100	2.2678	0.0233

Figura 7. Gráficos indicando o efeito do óleo essencial de tomilho para abelhas africanizadas durante a realização do bioensaio de repelência.



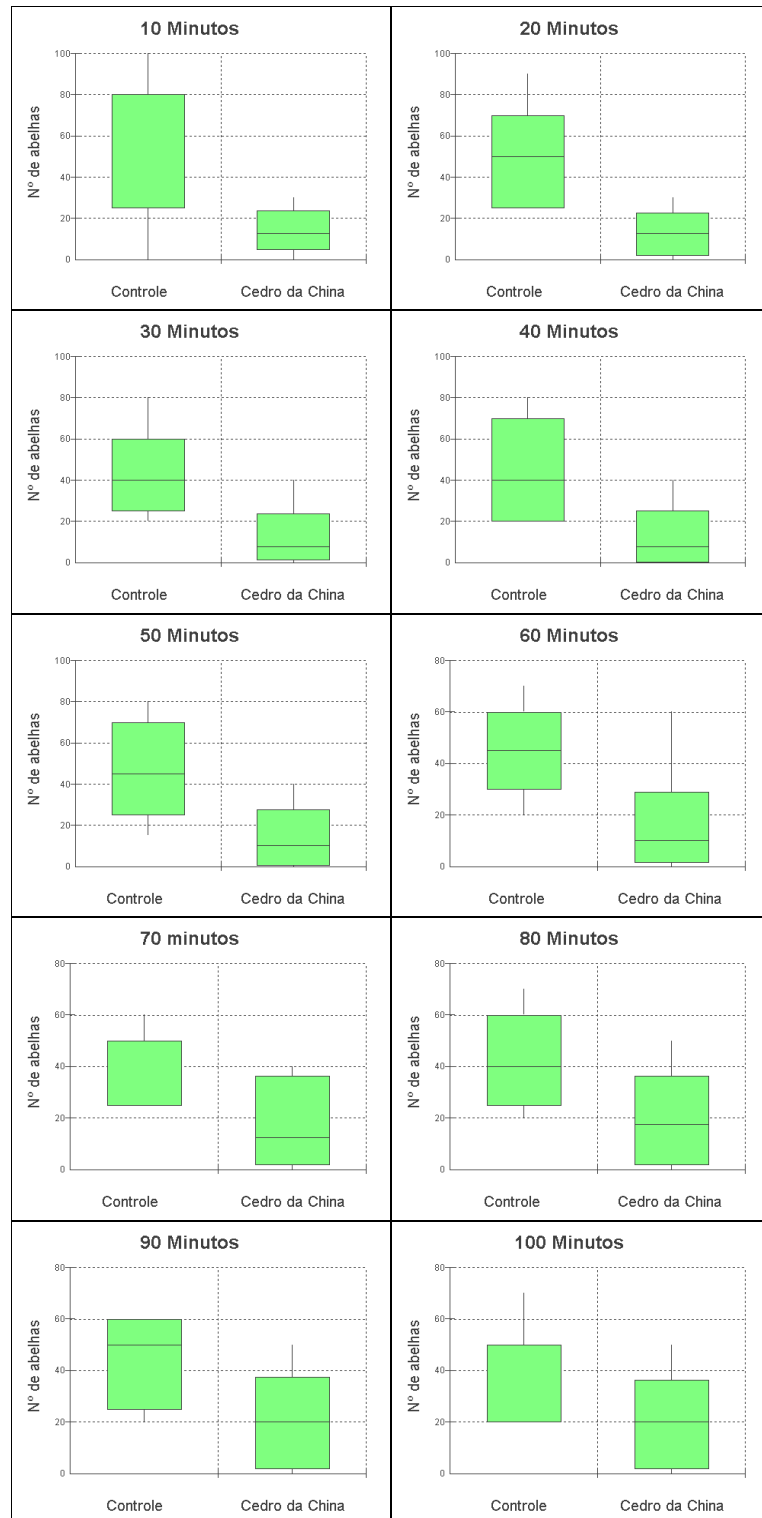
4.4. Óleo essencial do cedro (*Juniperus virginiana*).

O óleo essencial de cedro da china apresenta um poder repelente muito inconstante em relação aos outros produtos avaliados neste trabalho, como pode ser observado no resultado obtido para as medias apresentados na Figura 8. Observa-se também que estas médias se sobrepõem parcialmente em diversos momentos. Entretanto, estatisticamente, os resultados são significativos (Tabela 4), porém visualmente, nota-se que seu poder repelente é menos eficaz que outros produtos testados neste trabalho, e que a partir de 60 minutos torna-se ainda menos repelente às abelhas.

Tabela 4: Dados estatísticos para o teste de repelência para o óleo essencial de cedro.

Tempo (min.)	Valor “Z”	Valor “p”
10	2.0410	0.0412
20	3.1749	0.0015
30	2.8725	0.0041
40	2.4946	0.0126
50	2.7213	0.0065
60	2.6458	0.0082
70	2.7213	0.0065
80	2.2678	0.0233
90	2.2678	0.0233
100	2.1166	0.0343

Figura 8: Gráficos indicando o efeito do óleo essencial de cedro para abelhas africanizadas durante a realização do bioensaio de repelência.



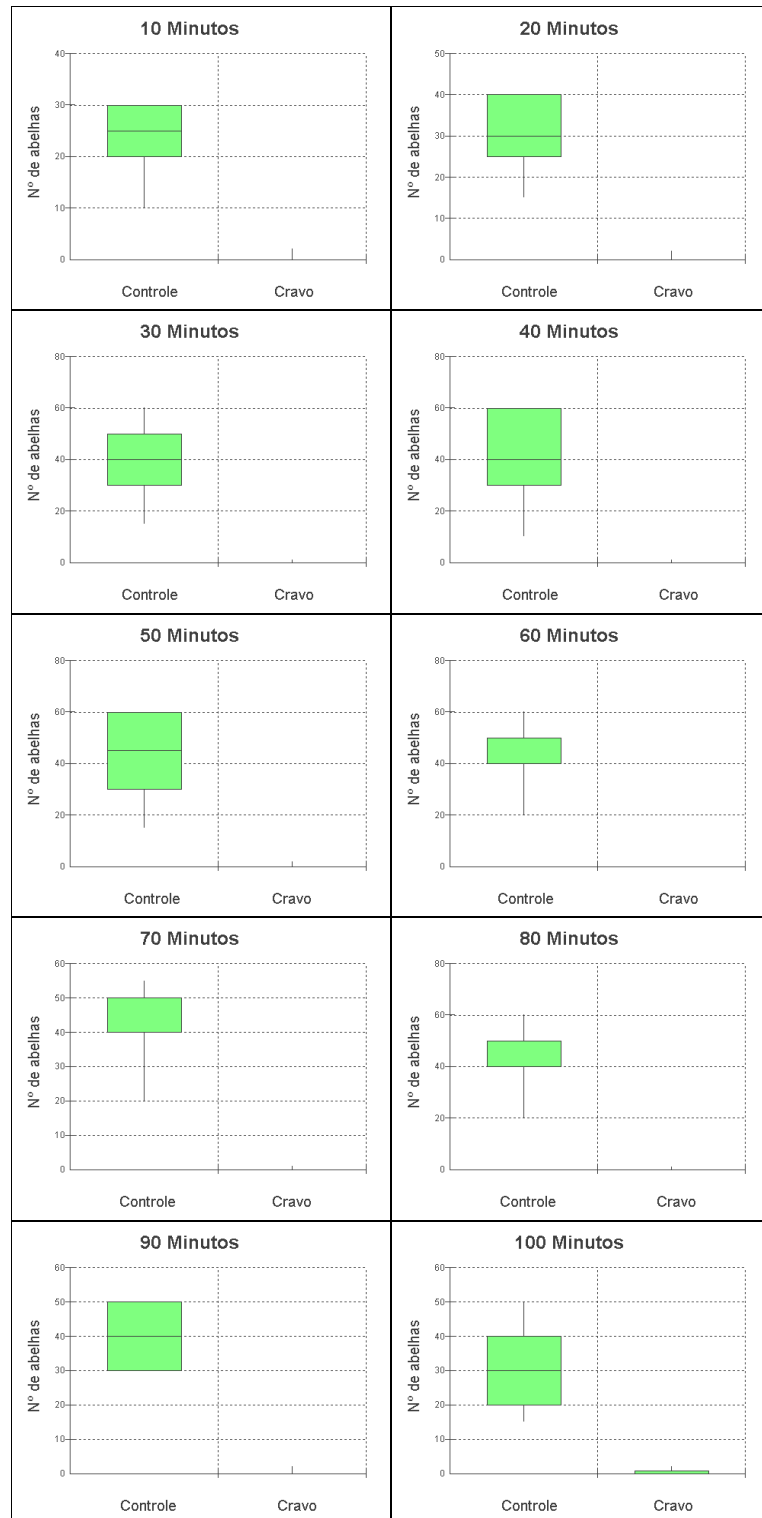
4.5. Óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*)

O óleo essencial de cravo apresenta um poder repelente extremamente poderoso e que persistiu durante todo o bioensaio (Figura 9). Em nenhum momento o número máximo de abelhas do grupo tratado ultrapassou cinco indivíduos, e o ponto de menor valor do grupo controle não se aproximou do grupo teste. Estatisticamente, os resultados obtidos geraram valores significativamente diferentes, comparando-se os grupos tratados e o controle, como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5: *Dados estatísticos para o teste de preferência para o óleo essencial de cravo.*

Tempo (min.)	Valor “Z”	Valor “p”
10	3.7796	0.0002
20	3.7796	0.0002
30	3.7796	0.0002
40	3.7796	0.0002
50	3.7796	0.0002
60	3.7796	0.0002
70	3.7796	0.0002
80	3.7796	0.0002
90	3.7796	0.0002
100	3.7796	0.0002

Figura 9: Gráficos indicando o efeito do óleo essencial de cravo para abelhas africanizadas durante a realização do bioensaio de repelência.



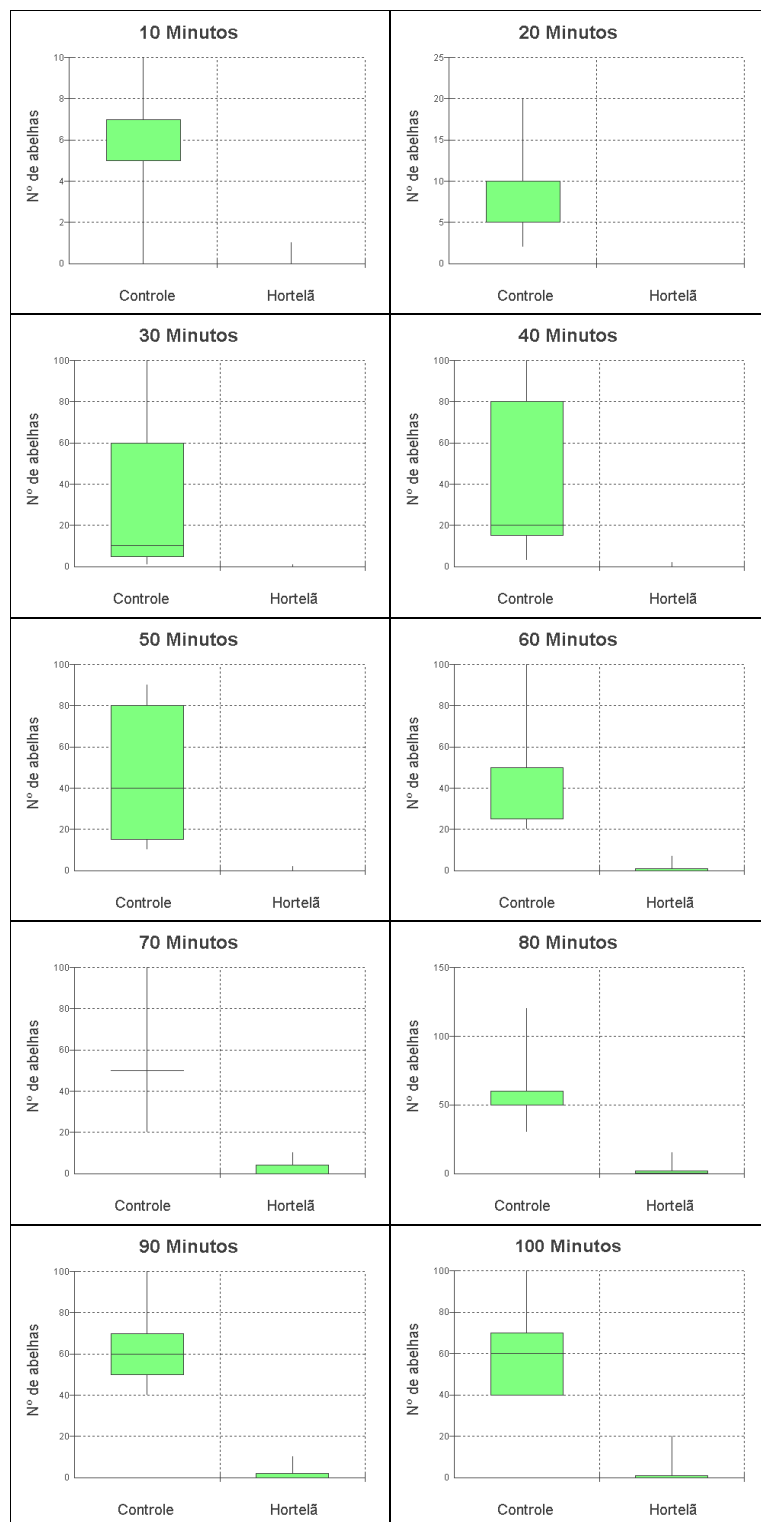
4.6. Óleo essencial de hortelã (*Mentha piperita*).

O óleo essencial de hortelã apresentou resultados significativos durante todo o bioensaio, como observado na Tabela 6. É possível observar nos gráficos que até o tempo de 50 minutos de análise, apenas o ponto de maior valor aparece no gráfico em relação ao grupo tratado, ou seja, em apenas uma repetição do bioensaio as abelhas frequentaram o grupo experimental. A partir do tempo de 60 minutos, o grupo tratado apresentou um pequeno aumento no número de visitas, porém ainda não comparável às visitas registradas para o grupo controle (Figura 10).

Tabela 6: *Dados estatísticos para o teste de repelência para o óleo essencial de hortelã.*

Tempo (min.)	Valor “Z”	Valor “p”
10	2.8725	0.0041
20	3.7796	0.0002
30	3.7796	0.0002
40	3.7796	0.0002
50	3.7796	0.0002
60	3.7796	0.0002
70	3.7796	0.0002
80	3.7796	0.0002
90	3.7796	0.0002
100	3.7796	0.0002

Figura 10: Gráficos indicando o efeito do óleo essencial de hortelã para abelhas africanizadas durante a realização do bioensaio de repelência.



4.7. Testes de Agressividade com óleos essenciais de capim limão, cravo e hortelã.

Nos testes de agressividade, foram utilizados apenas os óleos essenciais que repeliram as abelhas de forma que menos de 20 indivíduos freqüentassem o alimentador durante todo o período experimental de 100 minutos. Portanto, foram testados os óleos essenciais de capim limão, cravo e hortelã.

O óleo essencial de Capim Limão foi o único composto testado em que as abelhas apresentaram menor agressividade, comprovada estatisticamente com resultados significativos (Valor $Z(U)=1,299$; $p=0,1939$) em comparação ao grupo controle. O tempo médio até o primeiro ataque foi de 2 segundos para ambos os grupos. A bolinha utilizada para o grupo controle apresentou entre 40 a 50 ferrões por bioensaio enquanto o grupo Capim Limão apresentou entre 20 a 30 ferrões por bioensaio (Figura 11).

No teste de agressividade com o óleo essencial (Figura 12) de cravo as abelhas apresentaram agressividade semelhante à observada para o grupo controle. Estatisticamente, os resultados não apresentaram resultados significativamente diferentes (Valor $Z(U)=0,2887$; $p=0,7728$). O tempo médio destaque foi de 4 segundos para ambos os grupos.

No teste de agressividade com o óleo essencial de hortelã, as abelhas apresentaram comportamento inconstante (Figura 13), e estatisticamente não significativo (Valor $Z(U)=0$; $p=1$), não resultando em diferenças quando comparados o grupo tratado e o controle. O tempo médio do primeiro ataque foi de 2 segundos para ambos os grupos.

Figura 11: Gráfico comparando as repetições do Teste de Agressividade para o Óleo essencial de capim limão.

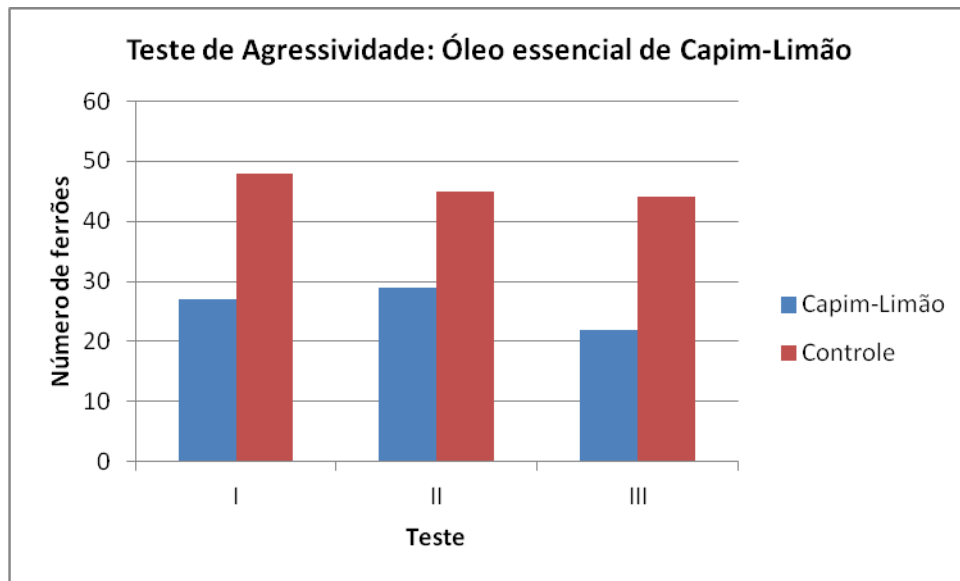


Figura 12: Gráfico comparando as repetições do Teste de Agressividade para o Óleo essencial de cravo.

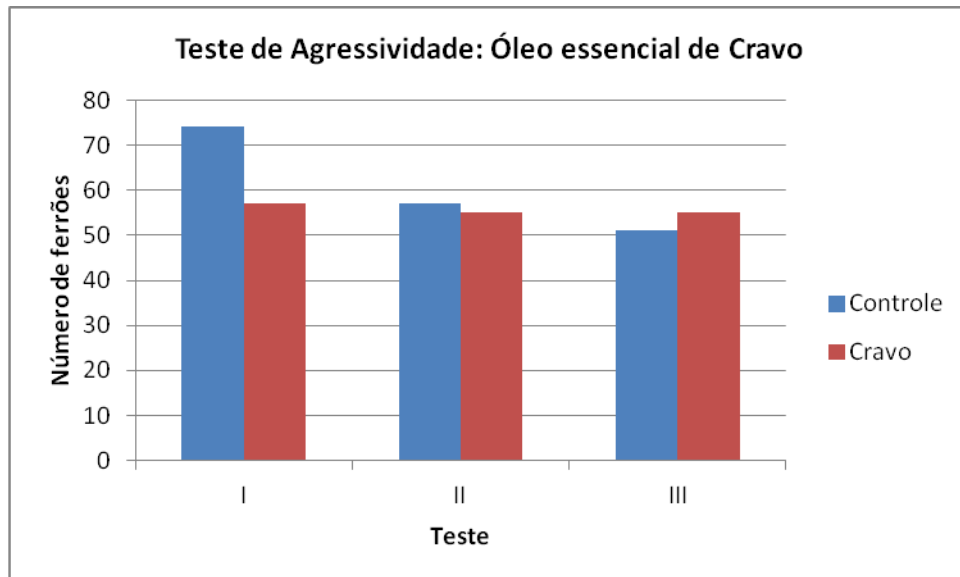
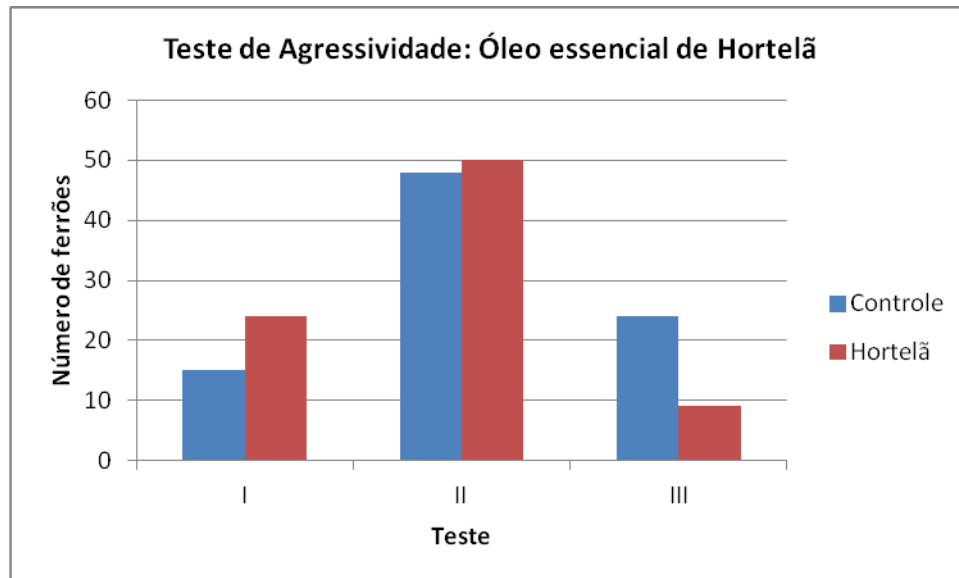


Figura 13: Gráfico comparando as repetições do Teste de Agressividade para o Óleo essencial de hortelã.



5. DISCUSSÃO

Os efeitos repelentes observados para o óleo essencial de alecrim permitiram analisar uma variação quanto à visitação das abelhas aos alimentadores durante o período do bioensaio, o que mostra que em algumas das repetições o composto não atua sobre as abelhas e em outros atua de forma bastante eficaz. As diferentes respostas podem ser explicadas por fenômenos físico-ambientais, pois a formação de chuvas, com alteração na velocidade do vento e umidade pode alterar a atividade de vôo das abelhas, e conseqüentemente seu comportamento, além de outros fatores como temperatura e intensidade luminosa (ROBERTS & HARRISON, 1999), ou alguma florada próxima aos ninhos.

Segundo HARBONE (1993), o alecrim apresenta grandes propriedades repelentes, corroborando o que foi observado neste trabalho. HORI e KOMATSU (1997) observaram atividade repelente em *Naotoxoptera formosana* e PLARRE *et al* (1997) produziu uma combinação de diversos óleos, dentre eles o de Alecrim, que promoveu repelência de 4 semanas contra *Tioneola bissilliella*, quando colocados em guarda roupas. Nos trabalhos de SOARES (2011) e MIGLIORINI (2010), foram utilizadas concentrações diluídas do óleo essencial, e estes também apresentaram resultados satisfatórios no controle de alguns insetos-praga, o que reforça a eficácia do Alecrim como um possível repelente de *Apis Mellifera*, porém com efeito limitado pelo breve tempo de atividade para esta espécie.

O óleo essencial de capim limão apresentou resultados bastante satisfatórios quanto à atividade repelente para abelhas africanizadas e poderá ser utilizado em projetos futuros que visem o desenvolvimento de produtos repelentes a esses insetos. Da mesma forma, o capim limão é popularmente utilizado no controle de piolhos por apresentar intensa atividade inseticida (LORENZI e MATOS, 2002). Em trabalho desenvolvido por SOARES (2011), o óleo essencial capim limão apresentou até 100% de mortalidade sobre a lagarta desfolhadora *Hyrintaina arnobia*, mesmo diluído a 5% e 10%. Para SOUZA *et al* (1991), o óleo essencial do capim limão foi eficaz repelente para 22 espécies diferentes de insetos. Os dados obtidos no presente trabalho comprovam a eficácia deste óleo essencial na repelência de insetos, sendo que a

eficiência como inseticida modifica-se segundo com a espécie em questão.

Nos testes de agressividade, o óleo essencial de capim limão foi o único em que as abelhas apresentaram menor agressividade, comprovada estatisticamente com resultados significativos (Valor $Z(U)=1,299$; $p=0,1939$) quando comparados o grupo tratado e o controle. NASCIMENTO *et al* (2005), em seus trabalhos com agressividade de abelhas, obteve como número máximo de ferrões encontrados numa bolinha em torno de 30 ferrões, em horários próximos à realização dos bioensaios apresentados neste trabalho (próximo às 15 horas). Entretanto, no trabalho supracitado os pesquisadores realizaram os bioensaios com a temperatura média de 34°C sendo que os testes com o óleo essencial de capim limão foram realizados a aproximadamente 27°C. A realização de novas avaliações mais específicas poderão concluir se o óleo essencial de capim limão apresenta repelência mesmo em testes de agressividade com abelhas africanizadas.

Os bioensaios com óleo essencial de tomilho evidenciaram efeito repelente satisfatório, porém limitado pelo tempo, sendo que o óleo deixou de inibir a visita das abelhas após 60 minutos de experimentação. Segundo CASTRO (2008), o óleo essencial de tomilho foi utilizado em uma serie de testes laboratoriais sobre indivíduos larvais de *Spodoptera frugiperda*, e em todos apresentou efeito repelente. MORSY *et al* (1998) também observaram um poderoso efeito repelente para este óleo sobre larvas de *Lucilia sericata*. VERTAK *et al* (1995) encontrou efeito repelente em mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, *Musca domestica* e *Periplaneta americana*. Tais efeitos foram atribuídos ao eugenol, que é a principal substancia contida no óleo essencial de Tomilho. Em abelhas, apresenta um poder de repelência muito considerável, porém tal efeito sofre uma diminuição gradativa ao longo do tempo. Para CAVALHERI (2003), o eugenol foi a substancia que melhor apresentou efeito repelente para abelhas, entretanto, seus bioensaios foram realizados em condições laboratoriais, o que pode dificultar a comparação com testes de semi-campo.

Dentre todos os óleos essenciais testados, o cedro foi o composto que possibilitou a maior visita dos alimentadores pelas abelhas mesmo nos grupos tratados. O óleo essencial de cedro foi pouco estudado quanto à ação repelente para insetos, não havendo um grande número de trabalhos. Entretanto, COSTA (1994) e

WEMER (2002) demonstraram que ele é rico em alcoóis, fenóis, ésteres, ácidos, aldeídos e terpenos, e que essas moléculas estão presentes em diversos produtos de característica repelente. No trabalho de CAVALHERI (2003), o óleo essencial de cedro apresentou repelência moderada em testes de campo, comparado aos outros produtos estudados. Comparando-se os dados aqui obtidos com o trabalho de RUTLEDGE *et al* (1996), observa-se que o óleo essencial de cedro também não proporcionou repelência quando testado em dípteros.

Os resultados obtidos quanto à grande repelência observada para o óleo essencial de cravo corrobora a vasta literatura a respeito do seu efeito repelente, que é acentuado e satisfatório. LUCCA (2009) e CHAIEB *et al* (2007) descrevem o potencial repelente do óleo essencial de cravo contra diversas espécies e dípteros e coleópteros. Ainda segundo CHAIEB e colaboradores, tal repelência tem 60% a 80% de efetividade. Para CAVALHERI (2003), o óleo de cravo apresentou resultados satisfatórios em testes de campo para repelência em abelhas. Entretanto, MORETTI (1989) não encontrou nenhum efeito repelente em testes de campo com abelhas e RIBEIRO (2000) obteve efeito atrativo com este óleo em testes semelhantes.

Tais informações demonstram o potencial do óleo essencial de cravo, que dependendo de sua concentração pode ser utilizado como um atrativo ou como um repelente. Assim como o óleo essencial de cravo, o óleo essencial de Hortelã apresenta grande potencial repelente contra dípteros em geral. Segundo KUMAR *et al* (2011) e ANSARI *et al* (2008) o mentol, substância predominante no óleo, é um poderoso repelente sobre *Aedes aegypti* e *Anopheles stephensi*, tanto em suas fases adultas quanto nas larvais. Tais fatores explicam o grande efeito repelente do óleo essencial de hortelã, que foi um dos mais consideráveis analisados neste bioensaio, inibindo quase por completo a visita das abelhas aos alimentadores tratados durante todo o período experimental.

Os óleos essenciais de cravo e de hortelã foram testados quanto à agressividade e não foram encontradas diferenças de comportamento quando comparados os grupos controle e tratados. Tais resultados evidenciam que sob condições de estresse os óleos essenciais não evitaram o ataque, embora tenham inibido a visita aos alimentadores. Os dados aqui apresentados diferem totalmente

dos dados alcançados por NASCIMENTO *et al* (2005), talvez por fatores abióticos, como o ninho utilizado nos testes ou o fato do óleo essencial de hortelã causar outros efeitos em abelhas, ao invés de repelência.

6.**CONCLUSÃO**

Neste trabalho, todos os óleos essenciais analisados apresentaram resultados satisfatórios, alguns com efeitos repelentes maiores e mais prolongados e outros com menores, sendo que o óleo essencial de cedro foi o que permitiu maior visitação aos alimentadores tratados.

Os óleos essenciais de capim limão, hortelã e cravo merecem um destaque especial, pois inibiram quase que totalmente as visitas de abelhas aos alimentadores montados durante todo o bioensaio, permitindo a visitação de número inferior a cinco indivíduos por alimentador, em todo o período avaliado durante a experimentação.

O óleo essencial de capim limão foi o único composto que mostrou resultados satisfatórios também nos testes de agressividade, registrando menor número de ferroadas na bolinha se comparada à do grupo controle. Desta forma, segundo os resultados obtidos nesse estudo, o capim limão apresenta maior potencial para o desenvolvimento de formulações repelentes para abelhas africanizadas (*Apis mellifera*).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANSARI, M.A.; VASUDEVAN, P; TANDON, M; RAZDAN, M. K; **Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil**. Indian Veterinary Journal, Tamil Nadu, v. 74 n. 7, p. 594-597, 2008.

BARRAVIEIRA, B. **Acidentes por abelhas e vespas**. In: Barraviera B (ed) Venenos ¾ Aspectos clínicos e terapêuticos dos acidentes por animais peçonhentos. EPUB, Rio de Janeiro, p. 339-344, 1999.

BAWA, K. S.: BULLOCK, S. H.: PERRY, D. R.: COVILLE, R. E. & GRAYUM, M.H. **Reproductive biology of tropical lowland rain forest tree**. II pollination systems. American Journal of Botany. v. 72: p. 346-356. 1985.

BROMENSHENK, J. J.; B. LIGHTHART, B.; MCGRAW II, R. L.; LOESER, M. R.; BIRCH, B. & BOWMAN, P. J. **Real-time monitoring of MPCA hazards to honeybees in a microbial containment flight chamber**. pp. 361-375. In: M. A. Levin & J. S. Angle (eds.), Biotechnology Risk Assessment: *USEPA/USDA/Environment*. Canada/Agriculture and Agri-Food Canada: University of Maryland Biotechnology Institute. 1996.

CAVALHERI, D. H. **Avaliação de metodologias e de substancias repelentes para abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.)** Rio Claro, 2003. 66p (Tese de Mestrado) Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista.

CENTRO de Vigilância Epidemiológica (CVE) “Prof. Alexandre Vranjac”. Fonte: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/> - acessado em 29 de Outubro de 2013.

CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA-NAKBI, A.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. HYTOTHER. Res. 2007, 21, 501.

CORBET, S.A.; WILLIAMS, I. H.; OSBORNE, J. L. **Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community**. Bee World nº 72(2): págs 47-59. 1991.

COSTA, A. F. **Farmacognosia I, II e III Volumes**. Ed. Calouste Gulbenkiansboa. (1982-1994)

COSTA, L.C.B.; CORRÊA, R.M.; CARDOSO, J.C.W.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; FERRI, P.H. **Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim limão**. Horticultura Brasileira, Brasília, v.23, n.4, p.956-959, out-dez 2005.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A.. **Apicultura: manejo e produtos**. Jaboticabal: FUNEP, p.191, 2002.

DINIZ, N. M. **Estudo dos processos de enxameagem e de abandono de colônias de abelhas africanizadas em zonas rurais e urbanas** [Tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 1990.

DINIZ FILHO, J. A. F.; MALASPINA, O. **Abelhas africanizadas nos anos 90. A história mostra que a população aprendeu a conviver com essas abelhas**. Ciência Hoje nº 90: 73-76, 1995.

FARAG, R. S.; ABD-EL-AZIZ, O.; ABD-EL-MOEIN, N. M.; MOHAMED, S. M. **Insecticidal activity of thyme and clove essential oils and their basic compounds on cotton leaf worm (*Spodoptera littoralis*)**. Bulletin of Faculty of Agriculture, University of Cairo, v. 45, n. 1, p. 207-230, 1994.

FREITAS, P. H.; **Controle de abelhas africanizadas em áreas urbanas**. Anais do seminário de extensão universitária - semex v. 1, n. 1 (2): anais do 7º semex, 2009

GONÇALVES, L. S. **The introduction of the African Bees (*Apis mellifera adansonii*) into Brazil and some comments on their spread in South America**. American Bee Journal, nº114, pág 414 - 415, 419, 1974.

HARBONE, J. B. **Ecological biochemistry**. 4 ed. London: Academic, 1993.

HORI, M.; KOMATSU, H. **Repellency of rosemary oil and components against the aphid. *Neotoxoptera formosana* (Homoptera, Aphididae)**. Applied Entomol. and Zool. V 32, n. 2, p. 303-310, 1997

KERR, W. E. 1967. **The history of the introduction of africanized bees to Brazil**. South African Bee Journal, nº 39, pág. 3-5.

KERR, W. E. & PORTUGAL-ARAÚJO, V. 1958. **Raças de abelhas da Africa**. Garcia de Orta, nº6, pág 53-59.

KUMAR, S. WAHAB, N; WARIKOO, R; **Bioefficacy of *Menth apiperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L.** Asian Pac J Trop Biomed 2011; 1(2): 85-88

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., Nova Odessa, 512 p. 2002

LUCCA, P. S.; **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil, 2009.

MALASPINA, O.; ZACARIN E. C. M. S. **Cell markers for ecotoxicological studies in target organs of bees**. Braz. J. morphol. Sci.v. 23 (3-4): p. 303-309. 2006.

MALERBO-SOUZA, D.T.; NOGUEIRA-COUTO, R.H. **Efeitos de atrativos e repelentes sobre o comportamento da abelha (*Apis mellifera*, L.)**. Scientia Agricola; volume 55, número 3, páginas 388-394. 1998

MANUAL de utilização do Biostat 5.0 – Aplicações Estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas. Belém – Pará – Brasil, 2007.

MIGLIORINI, P.; LUTINSKI, J. A.; GARCIA, F. R. M.; **Eficiência de extratos vegetais no controle de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), em laboratório**. Biotemas, 23 (1): 83-89. ISSN 0103 – 1643. Março de 2010.

MORETTI, A. C. C. C. **Estudo sobre a polinização entomófila do girassol (*Helianthus annuus* L.) utilizando diferentes métodos de isolamento de flora**. (Doutorado em Ciências): Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiróz”. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 126p. 1989.

MORSY, T. A.; SHOUKRY, A.; MAZYAD, S. A.; MAKLED, K. M. **The effect of the volatile oils of *Cheno podium ambrosoides* and *Thymus vulgaris* against the larvae of *Lucillia sericata* (Meigen)**. Journal of the Egyptian Society of Parasitology, v. 28, n. 2, p. 503-510, 1998.

OLIVEIRA, F. A.; GUIMARAES, J. V.; REIS, M. A. ; TEIXEIRA, V. P. A. **Acidente humano por picadas de abelhas africanizadas**. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2000, vol.33, n.4, pp. 403-405. ISSN 0037-8682.

ONAWUNMI, G.O.; YISAK, W.A.B.; OGUNLANA, E.O. **Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citrates* (DC.) Stapf**. *Journal of Ethnopharmacology*, v.12, p.279-286, 1984.

PLARRE, R.; POSCHKO, M.; PROZELL, S.; FRANK, A.; WOHLGEMUTH, R. PHILIPS, J. K. **Effects of oil of cloves and citronellol, two commercially repellents, against the webbing clothes moth *Tineola bisselliella* Hum. (Lepdoptera: Tineidae)**. *Anzeigenerfuer Schaedlingskunde pflanzenchutzum weitschutz*. V. 70, n. 3, p. 45-60, 1997.

RIBEIRO, A. M. F. **Polinização e uso de atrativos e repelentes para *Apis mellifera* (L.) em acerola (*Malpighia marginata* D.C.), girassol (*Helianthu sannus* L.), maracujá (*Passiflora edulis* Sims) e soja (*Glycine max* Merrill)**. (Tese de Mestrado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2000, 61p

ROBERTS, S.; HARRISON, J. F. **Mechanisms of thermoregulation on flying bees**. *American Zoologist*. n. 38, p 459-502. 1998.

ROBERTS, S.; HARRISON, J. F. **Mechanisms of the stability during flight in the honeybee *Apis mellifera***. *J. exp. Biol.* n. 202, p 1523-1533. 1999.

RUTLEDGE, L. C.; GUPTA, R. K. **Reanalysis of the C. G. Macnay mosquito repellent data**. *J. Vector Ecology*. V. 21, n. 2, p. 132 – 135, 1996.

SALIS, M.C. **A cultura do maracujá na região de Araguari, MG: o problema da polinização**. Monografia (Graduação) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Jaboticabal, 1987. 36p

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. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004.

SHEPHERD, M.; BUCHMANN, S. L.; VAUGHAN, M. & BLACK, S. H. **Pollinator conservation handbook**. The Xerces Society. Portland, Oregon, 145p. 2003.

SOARES, A.E.E. **Manejo de caixas iscas e suas implicações com a prevenção de acidentes.** In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 1998. Salvador, BA. Anais... Salvador: CBA/ FAABA. pág. 61-65. 1998.

SOARES, C.S.A; SILVA, M; COSTA, M. B; BEZERRA, C. E. S; **Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyriniteina arnobia* (stoll) (lepidoptera: geometridae).** Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.2, p. 154 – 157 abril/junho de 2011

SOUZA, M.P.; MATOS, M.E.O.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: Edições UFC, Laboratório de Produtos Naturais, 1991. 416 p.

SUS. Portal da Saúde. Disponível em:

http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/grafico_abelha_2000_2011_sudeste.pdf.

Acesso em 24 de outubro de 2013.

STORT, A.C. **Genetical study of agressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brasil. Some tests measure aggressiveness.** Journal of Apicultural Research. V.13, n. 1, p. 33-38. 1974.

TAJUDDIN; S. A.; LATIF, A.; QASMI, I. A. **Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry. (clove) on sexual behaviour of normal male rats.** BMC Complement. Altern. Med nº, 4, pág 17. 2004.

TOLEDO, V. A .A.; CHIARI, W. C.; COSTA, H.M.; LOPES, T. S.; TOLEDO, T. C. S. A .; MELLO A. I. P.; SALES, P. J. P.; MIRANDA, S. B. **Zootecnia-Apicultura: uma Inter-relação para Estimular o Desenvolvimento Sustentável e a Segurança da Comunidade.** In: 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, 2004. Belo Horizonte, MG. Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. Belo Horizonte, 2004.

VERTAK, P. H.; TUNGEKAR, V. B.; SHARMA, R. N. **Comparative repellent properties of certain chemicals against mosquitoes, house flies and cockroaches using modified techniques.** J. Communicable Diseases, v. 26, n 3, p 156 – 160, 1995.

VIEIRA, P.C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M.W. **Inseticidas de origem vegetal.** In: Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos: Ed. da UFSCar, (Série de Textos da Escola de Verão em Química), v.3, 2001. 176p.

VIEIRA, M. I. **Apicultura atual: Como lidar com abelhas africanizadas**. São Paulo: Infotec. 1992. Cap. 11.p-89-91.

WILLIAMS, I.H.; CORBERT, S.A.; OSBORNE, J.L. **Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community**. Bee World nº 72(4): págs. 170-180. 1991.

WINSTON, M. L., **A Biologia da Abelha**, Tradução de Carlos A. Osowski, Porto Alegre: Magister, 2003.

Aluno: Rafael Fávero

Orientador: Prof. Dr. Osmar Malaspina

Co-orientador: Dr. Andriago Monroe Pereira

Rio Claro
2014