

Seletividade de óleos essenciais de menta e alfavaca a *Apis mellifera*

Selectivity of mint and basil essential oils to *Apis mellifera*

RESUMO

Gabriela Osowski Varpechoski
Gaabi1996@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Michele Potrich
profmichele@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Raiza Abati
raizaabati@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Gabriela Libardoni
gabbylibardoni@hotmail.com
Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

Fabiana Martins Costa Maia
fabianamcosta@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

O objetivo foi avaliar a seletividade dos óleos essenciais (OEs) de *Mentha arvensis* (menta), *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) e *Ocimum selloi* (alfavaca-anis) a 1% a operárias de *A. mellifera*. Para isto, foram realizados dois bioensaios: 1) Bioensaio de contato de *A. mellifera* em superfície tratadas: as soluções dos OEs foram pulverizadas em placas de petri, posteriormente, grupos de 10 abelhas foram colocadas nas placas, onde permaneceram por duas horas, sendo posteriormente transferidas para gaiolas de PVC, com pasta cãndi e algodão embebido em água; 2) Bioensaio de ingestão: as abelhas foram anestesiadas e transferidas para gaiolas, onde receberam pasta Cãndi incorporada com os tratamentos. Ambos os bioensaios foram mantidos em sala climatizada ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$, fotofase 12h). Avaliou-se a longevidade das operárias de uma até 240 horas. O OE de alfavaca-cravo, quando pulverizado sobre superfície, causou redução na longevidade das abelhas para 115,12 horas, quando comparado às abelhas provenientes da testemunha (177,14 horas). No bioensaio de ingestão o OE de alfavaca-anis causou redução na longevidade das operárias de *A. mellifera* para 130,32 horas, enquanto as abelhas da testemunha apresentaram longevidade de 189,84 horas. Os OEs de menta e alfavaca-anis, a 1%, são seletivos a *A. mellifera* quando ingeridos.

PALAVRAS-CHAVE: Organismo não-alvo. Abelhas. Seletividade.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

The objective was to evaluate the selectivity of essential oils (OEs) *Mentha arvensis* (mint), *Ocimum gratissimum* (basil-harpichord) and *Ocimum selloi* (basil-anise) at 1% the workers of *A. mellifera*. For this, two bioassays were published: 1) Bioassay of contact of *A. mellifera* treated surface: the solutions of OEs were sprayed in petri dishes, later, groups of 10 bees were placed on the boards, where they remained for 2 hours, being subsequently transferred to PVC cages, with candy and cotton soaked in water; 2) Bioassay of ingestion, the bees were anaesthetised and transferred to the cages, where they received Candi paste incorporated with the treatments. Both bioassays were kept in heated room ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, R.H. $60 \pm 10\%$, photophase 12h). The longevity of workers from one to 240 hours was evaluated. The Oe of basil-harpichord caused reduction in longevity of bees to 115.12 hours, compared to bees from the control (177.14 hours). In the and bioassay of ingesting the EO of Basil-anise caused reduction in longevity of workers of *A. mellifera* to, (130.32 hours), while the witness bees had longevity of 189.84 hours. The OEs of mint and Basil-anise a 1%, are selective to *A. mellifera*, when ingested.

KEYWORDS: Non-target organism. Honey Bees. Selectivity.

INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos sociais que vivem em colônias, destacando-se *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), a qual é considerada o principal agente na polinização. Esta abelha contribui para o equilíbrio ambiental, além de produzir derivados como mel, geleia real, própolis e apitoxina (STRAUB et al., 2016).

Nos últimos anos os apicultores começaram notar o desaparecimento e também a mortalidade das abelhas, sendo o uso de inseticidas uma das principais causas desta mortalidade (PETTIS et al, 2012). O efeito do uso desses produtos fitossanitários sintéticos é tóxico para as abelhas (BAPTISTA et al., 2009; LIBARDONI, 2017). Quando as abelhas saem para o forrageamento, elas podem entrar em contato com esses produtos que em doses muito altas podem causar a morte de toda a colônia (CARVALHO et al, 2009).

Com uso excessivo de defensivos agrícolas para controle de insetos praga tem-se diminuído a população de abelhas e com isso tem gerado a busca por agentes de controle alternativos, os quais podem substituir os inseticidas convencionais e serem seletivos aos organismos não-alvos, como as abelhas. Os óleos essenciais apresentam-se como uma estratégia viável para redução das populações de insetos-pragas (CAVALCANTE et al, 2006), além disso, acredita-se que os mesmos sejam seguros a organismos não-alvos. Entretanto, para avaliar essa segurança, necessita-se de testes de seletividade. Assim, objetivou-se avaliar a seletividade de óleos essenciais de *Mentha arvensis*, *Ocimum gratissimum* e *Ocimum selloi*, óleos essenciais já utilizados para o controle de insetos e doenças, a operárias de *A. mellifera*.

MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), na Unidade de Ensino e Pesquisa de Apicultura (UNEPE - Apicultura) e no laboratório de Controle Biológico I.

Obtenção de *A. mellifera*

As operárias de *A. mellifera* foram obtidas por meio de favos de cria operculada provenientes do Apiário Experimental da UNEPE Apicultura da UTFPR-DV. Posteriormente estes quadros foram acondicionados em sacos de papel Kraft, e mantidos em sala climatizada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $60 \pm 10\%$), no laboratório de Controle Biológico, por 48 horas para emergência uniforme das operárias.

Os tratamentos utilizados nos bioensaios 1 e 2 foram: Tratamento 1: água destilada esterilizada + Tween 80[®] (0,01%) (testemunha); Tratamento 2: Menta (*M. arvensis* 1%); Tratamento 3: Alfavaca-Cravo (*O. gratissimum* 1%); Tratamento 4: Alfavaca- anis (*O. selloi* 1%).

Bioensaio 1: Contato de *A. mellifera* em superfície pulverizada com o óleo essencial de *M. arvensis*, *O. gratissimum* e *O. selloi*

Foram pulverizados os tratamentos em placas de petri de vidro (15 cm de diâmetro × 1,5 cm de altura). Para a pulverização, utilizou-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma[®] acoplado a uma bomba de pressão constante (1,2 kgf/cm).

Posteriormente, essas placas foram dispostas em câmara de fluxo laminar, para a evaporação da água. Após isso, as abelhas foram anestesiadas com CO₂, e grupos de 10 abelhas foram colocadas nas placas de petri, onde permaneceram por duas horas em contato com a superfície contendo os tratamentos. Na sequência, as abelhas foram transferidas para gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de Ø), onde cada gaiola recebeu vinte abelhas, sendo cada gaiola considerada uma repetição, totalizando cinco repetições por tratamento. Essas gaiolas foram cobertas com tecido *voile*, sendo sobre este, fornecido alimentação composta por pasta cândi e algodão embebido em água. As gaiolas foram acondicionadas em sala climatizada (27 ± 2°C, U.R. de 60 ± 10%, fotoperíodo 12h), para a avaliação da mortalidade. A avaliação foi realizada uma, duas, três, quatro, cinco, seis, nove, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 até 240 horas após o contato com a superfície tratada.

Bioensaio 2: Ingestão dos óleos essenciais de *M. arvensis*, *O. gratissimum* e *O. selloi* incorporados em pasta cândi

Foram anestesiadas com CO₂ dez operárias recém emergidas de *A. mellifera*, essas foram acondicionadas em gaiolas de PVC (20 cm de altura x 15 cm de Ø), posteriormente essas gaiolas foram cobertas com tecido *voile*. Cada gaiola recebeu dez abelhas, sendo cada gaiola considerada uma repetição, totalizando cinco repetições por tratamento. Foi fornecido algodão embebido em água e na pasta cândi foi incorporado os óleos essenciais, na concentração de 1%. As gaiolas foram acondicionadas em sala climatizada (27 ± 2°C, U.R. de 60 ± 10%, 12h fotoperíodo), para a avaliação da mortalidade conforme bioensaio 1.

Os dados dos bioensaios 1 e 2 foram submetidos à análise de variância de Kruskal-Wallis pelo teste de Dun, na sequência foi realizada análise de sobrevivência pelo teste de Kaplan-Meier para ambos os bioensaios, com auxílio do software estatístico R®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bioensaio 1: Contato de *A. mellifera* em superfície pulverizada com o óleo essencial de *M. arvensis*, *O. gratissimum* e *O. selloi*

Verificou-se que o OE de alfavaca-cravo (*O. gratissimum*) causou a redução na longevidade das operárias de *A. mellifera*, quando submetidas ao contato com superfície pulverizada (115,12 horas), bem como o OE (*M. arvensis*) (151,87 horas) e alfavaca-anis (*O. selloi*) (130,65 horas), quando comparado a testemunha (177,14 horas). A redução na longevidade das operárias, provocado pelo OE de alfavaca-cravo, foi de 62,02 horas (Tabela 1).

Tabela 1 - Longevidade média (em horas) de operárias de *A. mellifera* após serem submetidas ao bioensaio de contato em superfície pulverizada com o óleo essencial.

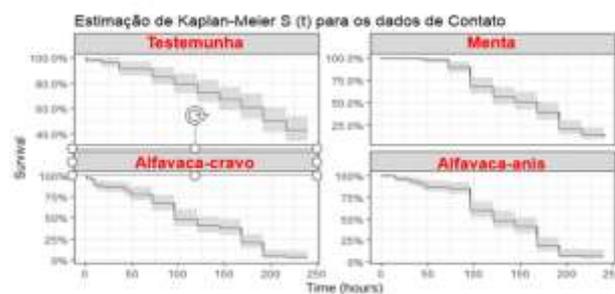
Tratamentos	Longevidade média (horas)
Testemunha	177,14 ± 7,26 a
Menta (<i>M. arvensis</i>)	151,87 ± 5,89 b
Alfavaca-cravo (<i>O. gratissimum</i>)	115,12 ± 6,66 c

Tratamentos	Longevidade média (horas)
Alfavaca-anis (<i>O. selloi</i>)	130,65 ± 5,69 bc
P	< 0,05

Letras distintas indicam diferenças significativas entre médias de tratamentos, por meio do teste de Dun em nível de 95% de credibilidade.

Pode-se observar a redução na taxa de sobrevivência das operárias de *A. mellifera* após o contato com a superfície tratada com os óleos, quando comparadas às operárias provenientes do tratamento testemunha (Figura 1). Verificou-se que, em 150 horas de experimento, haviam cerca de 70% operárias vivas no tratamento testemunha, enquanto no tratamento com óleo de menta havia 50%, com alfavaca- cravo e anis tinham 30% vivas.

Figura 1: Análise de sobrevivência (horas), após contato em superfície pulverizada sobre *A. mellifera*. Teste de sobrevivência Kaplan-Meier.



Fonte: Autores, 2019.

Neste bioensaio, foi possível verificar que as operárias de *A. mellifera* provenientes da testemunha apresentaram maior porcentagem de sobrevivência ao final das 240 horas, totalizando 40%.

Em estudos realizados em bioensaio de contato com soluções dos OEs de orégano (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*), menta (*M. arvensis*) e gengibre (*Zingiber officinale*) sobre *A. mellifera*, foi observado que o OE de orégano e o de tomilho foram os mais tóxicos, e o OE de menta e o gengibre apresentaram baixa toxicidade (SILVA, 2016). Segundo o mesmo autor, a baixa toxicidade do óleo essencial de menta está atribuída aos compostos majoritários, sendo o mentol o menos tóxico.

Bioensaio 2: Ingestão dos óleos essenciais de *M. arvensis*, *O. gratissimum* e *O. selloi* incorporados em pasta cândi

Verificou-se que o OE de alfavaca-anis (*O. selloi*) causou redução na longevidade das operárias de *A. mellifera*, no bioensaio de ingestão dos tratamentos em pasta cândi (130,32 horas), quando comparado a testemunha (189,84 horas) (Tabela 2). Os demais OEs não interferiram na longevidade das operárias.

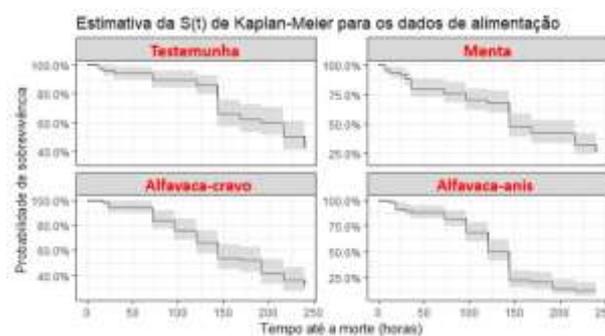
Tabela 2 - Longevidade média (em horas) de operárias de *A. mellifera* após serem submetidas ao bioensaio de ingestão dos óleos essenciais incorporados em pasta cândi contato em superfície pulverizada.

Tratamentos	Longevidade média (horas)
Testemunha	189,84±9,31 a
Menta (<i>M. arvensis</i>)	153,36±11,62 ab
Alfavaca-cravo (<i>O. gratissimum</i>)	167,4±10,07 ab
Alfavaca-anis (<i>O. selloi</i>)	130,32±8,69 b
P	<0,05

Letras distintas indicam diferenças significativas entre médias de tratamentos, por meio do teste de Dun em nível de 95% de credibilidade.

Em 150 horas após ingestão de pasta cândi incorporada com os tratamentos, a testemunha apresentava 65% das abelhas vivas, o tratamento com o OE de menta apresentava 50% das operárias vivas, de alfavaca-cravo 55% e no tratamento com alfavaca-anis apenas 25% das abelhas vivas (Figura 2).

Figura 2: Análise de sobrevivência (horas) de operárias de *A. mellifera* após ingestão de pasta cândi incorporadas com os tratamentos. Teste de sobrevivência Kaplan-Meier.



Fonte: Autores, 2019.

Ao final das 240 horas a testemunha apresentou maior porcentagem de abelhas vivas, totalizando 40%. Em contrapartida, as gaiolas contendo o tratamento com o EO de alfavaca-cravo, ao final das 240 horas, apresentaram apenas 5% de abelhas vivas.

O extrato aquoso de *Origanum majorana* (Lamiaceae), mesma família dos óleos essenciais testados no presente trabalho, apresentou toxicidade sobre operárias de *A. mellifera*, além de reduzir a longevidade e das abelhas (LEÃO, 2014).

CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de menta (*M. arvensis*) e alfavaca-anis (*O. selloi*) são seletivos a operárias de *A. mellifera*, na concentração de 1%, quando ingeridos.

Os óleos essenciais testados não foram seletivos para operárias de *A. mellifera* quando estas entraram em contato com superfície tratada com os mesmos.

Sugere-se futuros testes de pulverização direta, análises histológicas e análises moleculares a fim de complementar estes estudos.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas concedidas e fomento ao projeto (Processo: 422269/20166); à UTFPR, à empresa Garden City.

REFERÊNCIAS

- BAPTISTA, A. P. M. et al. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera*. *Ciência Rural*, v. 39, n. 4, p. 955–961, 2009.
- CARVALHO, S. M. et al. Toxicidade de acaricidas/inseticidas empregados na citricultura para a abelha africanizada *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae). *Revista Arquivos do Instituto Biológico*, v. 76, n. 4, p.197-206, 2009.
- CAVALCANTE, Giani M. MOREIRA, Albert F. C. VASCONCELOS, Simão D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca branca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.41, n.1, p.9-14, jan. 2006.
- LEÃO, R., T., da. Efeito de entomopatógenos e extratos vegetais sobre *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Dois Vizinhos, 2014. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2444/1/DV_PPGZO_M_Silva%20c%20Rita%20Tatiane%20Le%20a3o%20da_2014.pdf. Acesso em: 24 jul. 2019.
- LIBARDONI, G. **Efeito de *Bacillus thuringiensis* e produtos fitossanitários sintéticos na longevidade de operárias *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae).** [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.
- PETTIS, J. S. et al. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*, v. 99, n. 2, p.153158, 2012.
- SILVA, I., M., da. Óleos essenciais no controle de praga e seletividade a organismos não alvo. 2016. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2016. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/11673/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 24 jul. 2019.
- STRAUB, Lars et al. Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect contraceptives. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, v. 283, n. 1835, p.1-8, 2016.