



Sobrevivência de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) quando submetida à pulverização de nanoformulação de patchouli *Pogostemon cablin*

Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae) survival when subjected to patchouli *Pogostemon cablin* nanoformulation spraying

Andressa Faleira Andrade¹, Raiza Abati², Paula Fernandes Montanher³, Elizabete Artus Berte⁴ Michele Potrich⁵

RESUMO

Apis mellifera é uma abelha essencial no processo de polinização, entretanto, seu declínio está relacionado com os produtos aplicados no ambiente. Neste sentido é importante e deve ser constante analisar a seletividade de novos produtos. Assim este trabalho objetivou analisar a sobrevivência de operárias *A. mellifera* africanizada quando submetidas a pulverização da nanoformulação do óleo essencial de *ogostemon cablin* (nas concentrações 1%, 0,75%, 0,50%, 0,25%). Para isto foi pulverizado 290 µL de cada tratamento sobre *A. mellifera*, utilizando a Torre de Potter[®], equipamento que simula a pulverização em campo. As abelhas foram colocadas em gaiolas contendo xarope de água e açúcar e estas foram acondicionadas em câmara climatizada. A sobrevivência foi avaliada e posteriormente foram realizados testes de voo (deslocamento vertical) e queda (retomada de voo). O teste foi conduzido em uma sala sem luminosidade, usando a torre de voo. A nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin* não afetou a sobrevivência de *A. mellifera* e nem reduziu a capacidade de voo e a retomada deste. Destacando o potencial uso no controle de insetos ao mesmo tempo em que é seletivo a *A. mellifera*.

PALAVRAS-CHAVE: abelha; seletividade; inseticida botânico.

ABSTRACT

Apis mellifera is an essential bee in the pollination process, however, its decline is related to products applied to the environment. In this sense, it is important and must be constant to analyze the selectivity of new products. Therefore, this work aimed to analyze the survival of Africanized *A. mellifera* workers when subjected to spraying of the nanoformulation of *Pogostemon cablin* essential oil (at concentrations 1%, 0.75%, 0.50%, 0.25%). For this, 290 µL of each treatment was sprayed on *A. mellifera*, using the Potter Tower[®], equipment that simulates field spraying. The bees were placed in cages containing water and sugar syrup and placed in a climate-controlled chamber. Survival was assessed and after flight (vertical displacement) and drop (resumption of flight) tests were carried out. The test was conducted in a dark room, using the flight tower. The nanoformulation of *P. cablin* essential oil did not affect the survival of *A. mellifera* nor did it reduce the ability to fly or resume flight. Highlighting the potential use in insect control while being selective to *A. mellifera*.

KEYWORDS: bees; selectivity; botanical insecticide.

¹ Andressa Faleira Andrade (Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico - CNPq). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: andressafaleira@outlook.com. ID Lattes: 1802695427569666.

² Raiza Abati (CNPq). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: raizaabati@gmail.com. ID Lattes: 7714301739016528.

³ Paula Fernandes Montanher. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: paulamontanher@utfpr.edu.br. ID Lattes: 7565400427188557

⁴ Elizabete Artus Berte (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES). Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: elizabeteberte9@gmail.com. ID Lattes: 3043188009378552.

⁵ Michele Potrich. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: michelepotrich@utfpr.edu.br. ID Lattes: 6017285848848713



INTRODUÇÃO

As abelhas, especialmente a espécie *Apis mellifera* L. 1758 (Hymenoptera: Apidae), desempenha um papel fundamental na polinização de espécies agrícolas, contribuindo significativamente para a reprodução das plantas e, conseqüentemente, para manutenção da vida no planeta. No entanto, esses polinizadores estão enfrentando um declínio devido as atividades humanas, como desmatamento, queimadas e o uso de agrotóxicos, que podem afetar negativamente seu comportamento e habilidades cognitivas (LEITE *et al.*, 2016). Dessa forma pesquisadores têm buscado alternativas ao controle químico de pragas agrícolas e florestais, explorando óleo essenciais de plantas como uma opção. Alguns óleos essenciais, como o de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth, mostraram eficácia contra insetos de importância agrícola, como *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (SOUZA, 2022.). No entanto, este óleo pode prejudicar a longevidade e o comportamento de *A. mellifera* (BERTÉ *et al.*, 2022).

Para enfrentar esses problemas, a nanotecnologia tem sido estudada para desenvolver nanoformulações de óleo essencial. Essas formulações têm baixa volatilidade e permitem uma liberação controlada dos princípios ativos, o que pode reduzir a quantidade de inseticida aplicado e minimizar o impacto sobre insetos não-alvo (KUMAR *et al.*, 2014). No entanto, até o momento, não existem pesquisas sobre como essas nanoformulações afetam as abelhas. Portanto, este estudo tem como objetivo investigar o impacto das nanoformulações do óleo essencial de *P. cablin* sobre operárias de *A. mellifera* em laboratório, utilizando uma pulverização simulando o ambiente de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Controle Biológico (LABCON) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus Dois Vizinhos* (UTFPR-DV). Os tratamentos utilizados no experimento foram diferentes concentrações da nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin* (1%, 0,75%, 0,50%, 0,25%) e os controles (Água destilada esterilizada-Branco I, Branco II (compostos utilizados para fazer as nanoformulações)) e a CL₅₀ de Imidacloprid (controle positivo).

As operárias de *A. mellifera* foram coletadas em gaiolas de PVC (20 cm de altura × 15 cm de diâmetro) na UNEPE Apicultura, UTFPR-DV. Em seguida foram levadas para o LABCON e mantidas com alimento e água em câmara climatizada tipo B.O.D. (30° ± 2°C, UR 60 ± 10%, sem fotoperíodo) para simular o ambiente da colmeia. Para o bioensaio foram utilizados sete tratamentos e cinco repetições com 12 abelhas em cada repetição, totalizando 420 abelhas.

As abelhas foram anestesiadas com CO₂ por até 120 segundos, e transferidas para as placas de Petri de vidro, sendo colocadas 12 abelhas em cada placa. A pulverização de 290 µL de cada tratamento sobre *A. mellifera* foi realizada, utilizando a Torre de Potter® (Burkard), equipamento que simula a pulverização em campo. Após a pulverização as abelhas foram transferidas das placas de Petri de vidro para as gaiolas, devidamente identificadas. Dentro dessas gaiolas foram dispostos recipientes plásticos, cobertos com tela anti-afídica com capacidade de 2 mL, contendo xarope de água e açúcar, como fonte de alimento. Em seguida as gaiolas foram alocadas em câmara climatizada (30°



$\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$, sem fotoperíodo), iniciando a avaliação de sobrevivência as 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 horas.

Após a finalização das avaliações de sobrevivência das abelhas, foram selecionadas uma repetição oriunda das concentrações 0,25 %, 1,25% da nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin* e uma repetição do controle (água destilada esterilizada), para realizar os testes de voo (deslocamento vertical) e queda livre (retomada de voo). Foram usados 10 insetos por tratamento. O teste foi conduzido em uma sala sem luminosidade, usando a torre de voo (35 cm \times 35 cm de largura \times 105 cm de altura), com fonte luminosa na parte superior.

Para realização da análise do deslocamento vertical (voo), foi colocada uma abelha por vez na base da torre e depois de um minuto, verificou-se o maior estrato alcançado. Para avaliação da retomada de voo (queda livre), as abelhas, uma a uma, foram soltas na parte superior da torre, e observou-se o estrato do retorno de voo em direção da luz.

Os dados da sobrevivência das abelhas foram tabulados em planilha Excel e em seguida foram submetidos a análise de sobrevivência de Kaplan Meier e teste de sobrevivência usando pacote do software R.

Os dados para queda e voo foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e comparação de médias pelo Teste de Dunn a 5% de probabilidade com uso do software estatístico Bioestat 5.0®.

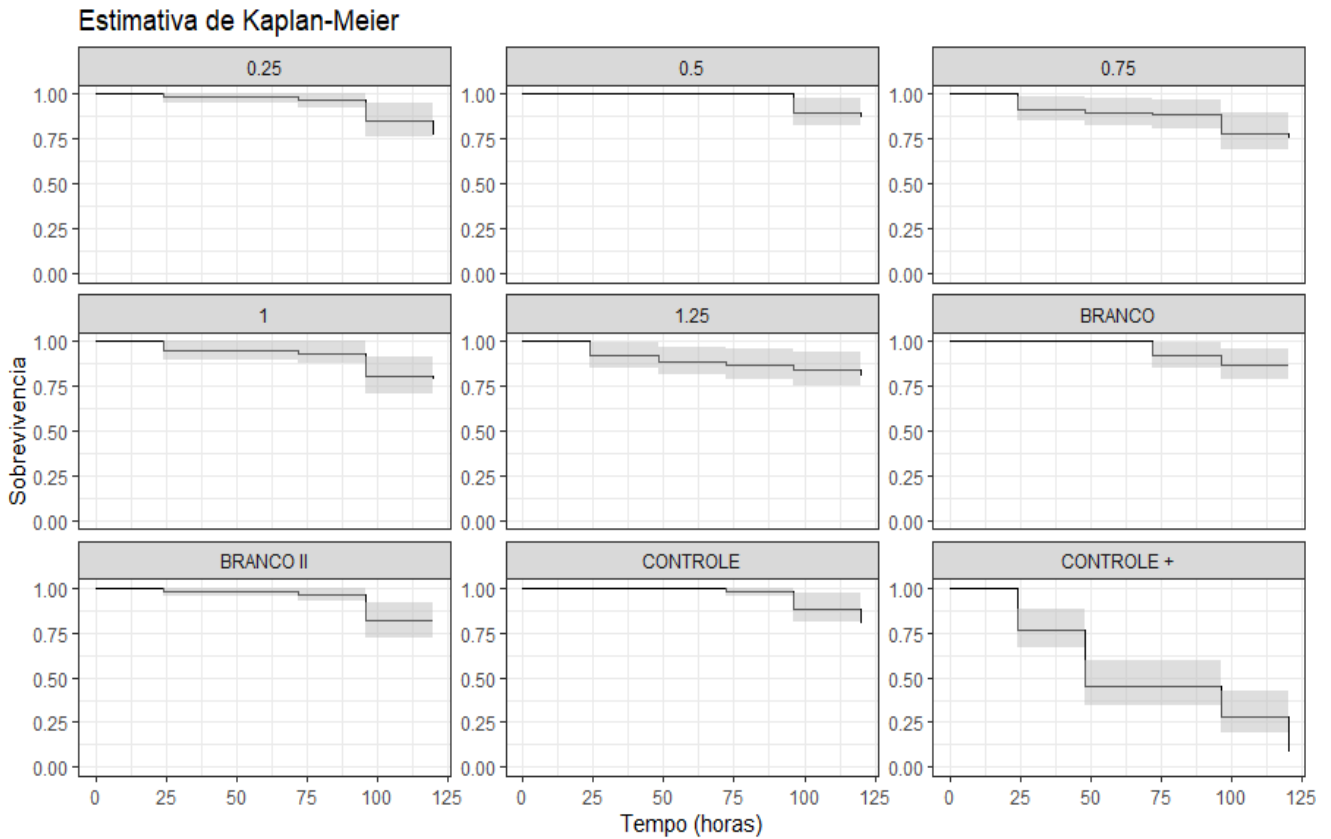
RESULTADO E DISCUSSÃO

As concentrações 0,25 %, 0,50%, 0,75%, 1% e 1,25% da nanoformulação do OE de *P. cablin*, quando pulverizada de forma direta sobre *A. mellifera*, simulando a condição de campo, não afetou a sobrevivência das abelhas (Gráfico 1). A média em porcentagem de sobrevivência das abelhas após pulverização das diferentes concentrações da nanoformulação do OEs de *P. cablin* foi de 79,4%, valor próximo ao apresentado pelo controle (80%). Também foi possível observar que não houve diferença significativa quando comparados ao Branco I e Branco II. Entretanto o controle positivo (Imidacloprid) causou efeito negativo, sendo que 120 horas depois da sua pulverização, 100% das abelhas estavam mortas (Gráfico 1).

No bioensaio de deslocamento vertical de *A. mellifera*, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos, sendo que o número de abelhas que alcançou o maior estrato foram as pulverizadas com a nanoformulação na concentração 1,25% quando comparadas ao controle (Gráfico 2). No bioensaio de queda livre, não houve diferença significativa entre os tratamentos e o controle, (Gráfico 3).

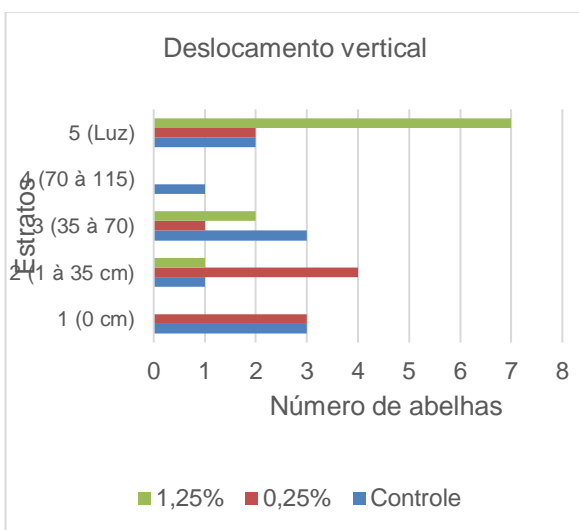
Não há trabalhos sobre o efeito de nanoformulações do óleo essencial *P. cablin* sobre *A. mellifera*, sendo o presente trabalho o primeiro a testar este efeito. Entretanto, nanoformulações do óleo essencial *P. cablin* possuem toxicidade comprovada sobre alguns insetos. O óleo essencial e a nanoformulação de *P. cablin* afetam a sobrevivência de formigas cortadeiras *Atta opaciceps*, *Atta sexdens* e *Atta sexdens rubropilosa*, causando a mortalidade de 50% das operárias (ROCHA, 2015). A nanoemulsão 6 (PCNE 6) (Fase 1: Solubilizante emulsificante, General Chemicals, Fase 2: Emulsiogen TS160 + OE) de *P. cablin* afetou a longevidade da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (SOUZA, 2022).

Gráfico 1- Sobrevivência de *Apis mellifera* após pulverização direta das diferentes concentrações da nanoformulação do óleo essencial de *Pogostemon cablin* durante 120 horas de avaliação.



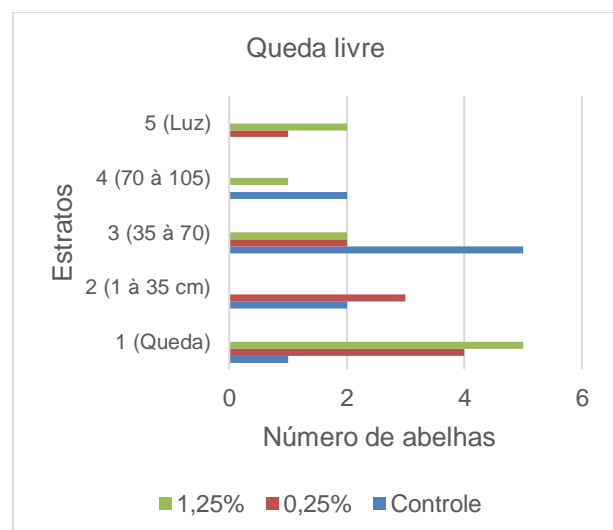
Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Gráfico 2- Deslocamento Vertical de *Apis mellifera* após pulverização direta das concentrações 0,25 e 1,25% da nanoformulação do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Gráfico 3- Queda livre de *Apis mellifera* após pulverização direta das concentrações 0,25 e 1,25% da nanoformulação do óleo essencial de *Pogostemon cablin*.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023).



Quadro 1 – Médias de deslocamento vertical e queda livre

	Controle	0,25%	1,25%	p
Deslocamento vertical	2,8 ± 1,549 b	2,4 ± 1,506 b	4,2 ± 1,317 a	< 0,05
Queda livre	2,8 ± 0,919 ns	2,1 ± 1,287 ns	2,5 ± 1,716 ns	0,3660

ns* não significativo

Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Um fator que pode ocorrer é o óleo essencial causar mortalidade a um inseto e a nanoformulação deste mesmo óleo, nas mesmas concentrações, não afetar a sobrevivência deste. Este fator pode ocorrer devido ao nanoencapsulamento que evita que os princípios ativos da formulação nanoencapsulada seja danificada e controla sua liberação, dessa forma pode afetar a ação das nanoformulações sobre insetos, já que a dispersão do ingrediente ativo pode ser reduzida devido a este processo (JARDIM, 2014).

Com o óleo essencial e a nanoformulação de *P. cablin* nas mesmas concentrações, também é possível observar essa diferença na sobrevivência, quando pulverizado de forma direta sobre *A. mellifera*. No presente trabalho a pulverização de nanoformulação de *P. cablin* a 0,75% sobre as abelhas não afetou a sobrevivência das mesmas, em 120 h de avaliação, entretanto no trabalho de BERTÉ *et al.* (2022), quando a concentração de 0,75% do OE *P. cablin* foram pulverizadas de forma direta sobre as abelhas, a sobrevivência das abelhas foi reduzida, quando comparo ao controle, em 120 h de avaliação. O óleo essencial de *P. cablin* também afetou o voo e a retomada de voo de *A. mellifera* (BERTÉ *et al.*, 2022). Também foi possível observar que quando as abelhas entram em contato com superfície vítrea pulverizada com 0,75% do óleo essencial de *P. cablin* por 2 h, ocorre a redução da sobrevivência das abelhas (COLOMBO, *et al.*, 2019).

A aplicação direta das concentrações de 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1% e 1,25% da nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin* sobre as operárias de *A. mellifera* não apresentou impacto negativo na sobrevivência, no voo e na retomada de voo das abelhas. No entanto, ao observar o deslocamento vertical, notou-se que a concentração mais elevada, 1,25% da nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin*, destacou-se, com maior número de abelhas atingindo o estrato mais alto, em relação ao grupo de controle.

Nesse contexto, torna-se relevante a realização de futuros testes de análise bioquímica, comportamental e de alimentação, a fim de avaliar possíveis efeitos das concentrações da nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin* sobre o sistema nervoso, a coordenação motora e as funções cognitivas das abelhas.

CONCLUSÃO

A nanoformulação do óleo essencial de *P. cablin* em diferentes concentrações (0,25%, 0,50%, 0,75%, 1% e 1,25%), após pulverização direta simulando aplicação em campo, não afetou a sobrevivência de operárias de *A. mellifera*, o voo e a retomada de voo.

Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico) pelo fomento ao projeto (PROCESSO: 313244/2020-0 e PROCESSO: 408121/2021-1), à (UTFPR- DV) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, aos Laboratório de



Controle Biológico (UTFPR-DV) e Laboratório de Central de Análise (UTFPR-DV), e aos colaboradores Deiane dos Santos Alves, Thiago Cacção Villa, Fernanda Raulino Domanski, Everton Ricardi Lozano, Fabiana Martins Costa, Victória da Silva Santos, na execução do experimento.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

BERTÉ, E. A. *et al.* **Abelhas campeiras de *Apis mellifera* L. africanizada (Hymenoptera: Apidae) são suscetíveis aos óleos essenciais de Pitanga (*Eugenia uniflora*) e de Patchouli (*Pogostemon cablin*)?** 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em:

<https://riut.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/31358/1/abelhacampeiraapismelliferaafricanizada.pdf>. Acesso em: 10. set.2023.

COLOMBO, F. C. *et al.* **Seletividade de fungos entomopatogênicos e óleos essenciais a *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae).** 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em:

http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4393/1/DV_PPGSIS_M_Colombo%2C%20Fernanda%20Caroline_2019.pdf. Acesso em: 10. set. 2023.

JARDIM, K. V. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana/sulfato de condroitina para nanoencapsulação da curcumina visando sua liberação controlada e avaliação de sua atividade antitumoral.** 2014. Disponível em:

http://www.realp.unb.br/jspui/bitstream/10482/14920/3/2013_KatiusciaVieiraJardim.pdf. Acesso em: 08. set.2023.

KUMAR, S *et al.* Synthesis, characterization and field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v .101, p 1061-1067, 2014.

LEITE, R. V. V. *et al.* O despertar para as abelhas: educação ambiental e contexto escolar. In: **Congresso Nacional de Educação**. Natal. 2016. p. 1-12.

ROCHA, A. G. *et al.* **Atividade formicida de *Pogostemon cablin* e sua nanoformulação sobre formigas cortadeiras.** 2015. Disponível em:

https://ri.ufs.br/jspui/bitstream/riufs/3003/1/ANDERSON_GOES_ROCHA.pdf. Acesso em: 10. set. 2023.

SOUZA, D. H. M. de *et al.* **Toxicidade de óleos essenciais de lamiáceas e da nanoemulsão de *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth (Lamiaceae) para *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).** 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em:

<https://riut.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/30052/2/toxicidadepogostemoncablinnanoemulsa.o.pdf>. Acesso em: 09. set. 2023.