

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE**

**EFICIÊNCIA DE TRÊS MÉTODOS: ALTERNATIVO, BIOLÓGICO E QUÍMICO,
NO CONTROLE DO ÁCARO *Varroa destructor* Anderson e Trueman (2000) EM *Apis
mellifera* Linnaeus (1758)**

BRENDA RUBI BAUTISTA PÉREZ

ARARAS

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE**

**EFICIÊNCIA DE TRÊS MÉTODOS: ALTERNATIVO, BIOLÓGICO E QUÍMICO,
NO CONTROLE DO ÁCARO *Varroa destructor* Anderson e Trueman (2000) EM *Apis
mellifera* Linnaeus (1758)**

BRENDA RUBI BAUTISTA PÉREZ

Orientadora: Profa. Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente como requisito para obtenção do título de mestre em Agricultura e Ambiente.

ARARAS

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P438e Pérez, Brenda Rubi Bautista
Eficiência de três métodos : alternativo,
biológico e químico, no controle do ácaro Varroa
destructor Anderson e Trueman (2000) em Apis
mellifera Linnaeus (1758) / Brenda Rubi Bautista
Pérez. -- São Carlos : UFSCar, 2016.
59 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2016.

1. Abelhas. 2. Flumetrina. 3. Orégano. 4.
Tomilho. 5. Beterraba. I. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Brenda Rubi Bautista Perez, realizada em 14/06/2016:

Profa. Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli
UFSCar

Profa. Dra. Sandra Eloisi Denardi
UNESP

Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujihara
UFSCar

DEDICATÓRIA

A minha mãe por lutar sempre ao meu lado, por todos seus ensinamentos e por todo seu amor, mas especialmente por pedir a Deus em todo momento que cuide de mim.

À memória de meus avós porque sem eles não seria o que eu sou.

À minha melhor amiga e irmã Beatriz por estar ao meu lado nos momentos mais felizes, mas sobretudo nos mais difíceis, por fazer-me ver todos os dias que sempre ficará comigo.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota. ” (Theodore Roosevelt)

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Roberta Cornélio Ferreira Nocelli pela orientação, paciência, carinho pelo nosso trabalho, pois devo a ela toda evolução nessa experiência maravilhosa que foi estar no mestrado. Me sinto lisonjeada em ter conhecido uma mulher tão dedicada e competente, que servirá de espelho para os meus futuros projetos.

Aos meus pais e minha irmã, por todo amor, apoio e confiança que depositaram em mim. Sem eles, não estaria perto de onde cheguei, e quero muito voltar ao México para mostrar que todo esse esforço valeu a pena.

À UFSCar de Araras, pela recepção calorosa e por abrir portas para que experiências fossem compartilhadas. À pós-graduação, professores, aos técnicos dos laboratórios de Biologia e Química especialmente a Aline Cristine, Yves Aikawa, João Expedito e Humberto Luís do CCA e componentes desta equipe pelo grande incentivo e ajuda, compartilhando conhecimentos e me tornando a profissional que sou hoje.

Ao Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia pelo incentivo, pela oportunidade e pela bolsa econômica, já que sem sua ajuda nada disso teria sido possível.

Ao programa de Coimbra- Brasil, pelo apoio na inscrição do Mestrado. Aos Institutos Tecnológicos de México, a Embaixada do México por todo o apoio moral e econômico. Ao Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca e aos professores que sempre me ajudaram e apoiaram nesta meta.

À UNESP- Rio Claro por me permitir realizar as coletas das abelhas para a realização dos experimentos. Ao Dr. Osmar Malaspina pelo apoio nas coletas e pela disposição de tempo.

Aos meus amigos de México que sempre ficaram por perto mesmo que tão longe, perguntando me apoiando todos os dias. A meu amigo Ramiro por ter me ajudado e incentivado sempre, a meu amigo Irving por ter a confiança de me levar na sua casa e me fazer participar da sua linda família.

A minha amiga Tairini Cristine, por ter-me ajudado imensamente em todas as situações que eu precisei dela, como amiga e parceira de casa, além de ajudar nas correções deste trabalho. A minha querida amiga Suzana, por ficar sempre do meu lado nos dias bons e ruins, além da ajuda nos experimentos.

À Professora Priscilla Loiola pela ajuda na análise dos dados do projeto, pela amizade e os conselhos. À Mestre Renata Cuba por ter me ajudado no primeiro dia que cheguei neste país maravilhoso.

Às meninas de casa: Ingrid Rosane, Tairini, Laura, Ingrid Andrade, Naiade Regina, Tatiane, Samantha, por todos os momentos que vivemos juntas, me aceitando como uma integrante da família Curtisso. A todos os amigos e parceiros do Brasil que cuidam de mim. Sempre de braços abertos e um grande sorriso dizendo que gostam de mim, por ficar do meu lado sempre. Nunca vou esquecer de vocês! Agora já são parte da minha vida.

RESUMO

As abelhas são os agentes polinizadores mais importantes dos agroecossistemas por realizarem a polinização de até 90% das plantas nativas e de mais de 1/3 das plantas cultivadas. Estudos desenvolvidos ao redor do mundo vêm demonstrando um fenômeno chamado CCD (Colony Collapse Disorder), que tem como agente causal vários fatores incluindo as doenças que afetam este grupo. Dentre elas, a varroose, resultante do ataque do ácaro *Varroa destructor*, é o patógeno relatado como fator de grande impacto sobre a espécie *Apis mellifera*. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de três métodos para o controle de *V. destructor*: o alternativo, obtido a partir da destilação de orégano (*Origanum vulgare* Lineus, 1753), tomilho (*Thymus vulgaris* Lineus, 1753) e beterraba (*Beta vulgaris* Lineus, 1753); o biológico, executado a base de larvas de zangões e o químico, realizado com a aplicação do princípio ativo flumetrina. Os resultados foram avaliados por meio de análise estatística no programa R para determinar as diferenças entre os tratamentos e as concentrações propostas e selecionar o melhor método para controle. Nas análises, foi observado que o método alternativo apresentou diferença significativa, destacando as destilações de tomilho como mais eficientes por não haver morte significativa das abelhas, além de causar a morte de todos os ácaros em menor tempo comparado, aos outros destilados. O método biológico a base de larvas de zangões também é eficiente devido a preferência do ácaro por estes indivíduos. No controle químico o uso do ingrediente ativo flumetrina, causou intoxicação nas abelhas, com diarreia nas primeiras 6 horas após aplicação, e depois de 48 horas causou uma mortalidade de 100%, o que demonstra ser inviável para o controle do ácaro.

Palavras-chave: abelhas, flumetrina, orégano, tomilho, beterraba, varroose.

ABSTRACT

Bees are the most important pollinators of agricultural ecosystems by carrying out pollination of up to 90% of native plants and more than one third of cultivated plants. Studies conducted around the world have been demonstrating a phenomenon called CCD (Colony Collapse Disorder), whose causal agent several factors including diseases that affect this group. Among them, the varroa resulting from the *Varroa destructor* mite attack, is reported as pathogen major impact factor on the *Apis mellifera*. In view of this, the objective of this study was to test the efficiency of three methods to control *V. destructor*: alternative, obtained from the distillation of oregano (*Origanum vulgare* Linnaeus, 1753), thyme (*Thymus vulgaris* Linnaeus, 1753) and sugar beet (*Beta vulgaris* Linnaeus, 1753); biological, run base drones and larvae chemical, carried out with the application of active flumethrin principle. The results were evaluated by statistical analysis in R program to determine the differences between treatments and proposed mergers and select the best method of control. In the analysis, it was observed that the alternative method showed a significant difference by highlighting thyme distillation as more efficient because there is no significant killing of bees and cause the death of all the mites in a shorter time compared to the other distillates. The biological method hornets larvae base is also preferably effective due to mite in these individuals. In chemical control the use of the active ingredient flumethrin caused poisoning in bees, with diarrhea in the first 6 hours after application, and after 48 hours caused a mortality of 100%, which demonstrates be impractical to control the mite.

Key words: bees, flumethrin, oregano, thyme, sugar beet, varroose.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. Apicultura	10
1.2. Doenças das abelhas	15
1.3. <i>Varroa destructor</i> Anderson e Trueman (2000)	16
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo Geral	24
2.2. Objetivos Específicos	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Locais de estudo	25
3.2. Coleta dos favos infestados com <i>V. destructor</i>	25
3.3. Método alternativo	27
3.4. Método biológico	31
3.5. Método químico	32
4. RESULTADOS	34
4.1. Método alternativo	34
4.2. Método biológico	41
4.3. Método químico	42
5. DISCUSSÃO	44
5.1. Método alternativo	44
5.2. Método biológico	46
5.3. Método químico	47
6. CONCLUSÃO	49
7. REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

1.1. Apicultura

As abelhas surgiram há cerca de cem milhões de anos e, junto com as flores formaram uma relação de dependência recíproca. As abelhas coletam o pólen e o néctar das flores para sua sobrevivência e as plantas são fecundadas por meio do transporte de pólen de uma flor para outra (SANTOS, 2015).

A atividade apícola é responsável pela produção e exploração das abelhas e é considerada como uma atividade de grande importância, tanto econômica quanto social, biológica e ecológica (GUZMAN et al., 2007). No aspecto econômico e social, a apicultura gera trabalho para o homem no campo, por meio da coleta e venda de produtos apícolas, contribuindo para a qualidade de vida em áreas rurais. No aspecto biológico e ecológico ajuda na preservação de espécies nativas, no aumento da produção agrícola e na manutenção da biodiversidade, realizada pelas abelhas por meio dos serviços de polinização (FREITAS et al., 2009).

O mel é uma solução altamente concentrada de açúcar e outras substâncias que são geradas a partir do néctar de diferentes tipos de flores, fazendo com que suas propriedades e conteúdo seja variável (Tabela 1). Ele é produzido pelas abelhas para alimentar suas larvas e adultos, garantindo a sobrevivência durante o inverno. As abelhas operárias coletam o néctar das flores, transportando-o no papo, onde recebe secreções de glândulas que atuarão na transformação em mel. Em seguida, é armazenado e amadurece nos favos de mel em suas colmeias (CARON, 2010).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do mel.

Análises	Amostras
	<i>Apis mellifera</i>
Umidade (%)	18,27 ± 0,4
HMF (mg/Kg mel)	10,82 ± 0,46
Acidez Livre (mEq/Kg)	26,47 ± 0,46
Atividade Diastásica	42,87 ± 2,85
Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	284 ± 5,00
Cor (mmPfund)	26,67 ± 0,58
Cinzas (%)	0,13 ± 0,00
Sólidos Insolúveis (%)	0,01 ± 0,00
Lipídios (%)	0,38 ± 0,00
Proteínas (%)	0,49 ± 0,01
Glicose (%)	23,50 ± 0,73
Frutose (%)	38,78 ± 0,69
Sacarose (%)	5,72 ± 0,23

Fonte: BRASIL (2000).

Segundo os dados apresentados pela Associação Brasileira dos Exportadores de Mel (ABEMEL, 2016) o Brasil encontra-se na oitava posição no ranking de maiores exportadores mundiais no ano de 2014, subindo três posições em relação ao ano de 2013 (Tabela 2).

Tabela 2. Ranking dos países exportadores de mel em toneladas nos anos de 2012, 2013 e 2014.

	PAÍS EXPORTADOR ANO 2012	VOLUME (TONELADAS)	PAÍS EXPORTADOR ANO 2013	VOLUME (TONELADAS)	PAÍS EXPORTADOR ANO 2014	VOLUME (TONELADAS)
1	China	110.158	China	124.901	China	129.824
2	Argentina	75.135	Argentina	65.180	Argentina	54.500
3	México	32.040	Vietnã	35.313	Vietnã	49.641
4	Índia	24.515	México	33.458	México	39.152
5	Alemanha	22.262	Índia	30.099	Ucrânia	36.336
6	Vietnã	21.538	Alemanha	22.628	Índia	26.976
7	Espanha	19.661	Bélgica	22.020	Espanha	26.111
8	Canadá	18.325	Ucrânia	21.674	Brasil	25.317
9	Bélgica	16.726	Espanha	21.284	Alemanha	22.547
10	Brasil	16.707	Hungria	20.724	Bélgica	20.006
11	Hungria	14.534	Brasil	16.181	Hungria	17.928

Fonte: ABEMEL, 2016

No ano de 2015 o Brasil teve uma exportação de 22.205 toneladas, gerando um faturamento de US\$ 82 milhões. O montante exportado em 2015 registra uma queda de 17,10% em valores e queda de 12,29% em volume frente a 2014, diferença representada em números por US\$ 16.856.089,00 e 3.111 toneladas, respectivamente. Este montante fez com que 2015 fosse considerado o segundo melhor ano das exportações brasileiras de mel, entre os anos de 2009 a 2015, ficando atrás apenas de 2014, ano em que o Brasil exportou US\$ 98,5 mi. Observa-se também uma redução de 5,48% no valor do preço médio exportado em 2015, se comparado ao ano anterior (TRADEMAP, 2016).

Além do mel, a apicultura gera outros produtos para os apicultores, como cera, própolis, pólen, geleia real, apitoxina e o serviço da polinização.

A cera é outro produto obtido das colmeias de abelhas e é produzida pelas glândulas cerígenas localizadas no abdômen de abelhas com 12 a 18 dias de idade (CARON, 2010). É utilizada na construção dos favos, onde estocam seu alimento e constroem as células de cria, para cobrir as células de mel e para a proteção das pupas. Além da incorporação deste produto na indústria, farmácia, medicina e na fabricação de produtos cosméticos (LASTRA, 2004).

O própolis é uma substância obtida a partir de secreções de árvores, flores, folhas e pólen, recebendo ainda a adição de substâncias secretadas pelo metabolismo glandular das abelhas (BANSKOTA; TEZUKA; KADOTA, 2001). Sua composição pode variar dependendo dos tipos de plantas onde são coletadas (Tabela 3), sendo usado pelas abelhas para selar as fissuras que existem na colmeia para proteção do frio, vento, inimigos, dentre outros (CARON, 2010). Também é usado como antimicrobiano, antioxidante, anti-inflamatório, cicatrizante e anestésico pelos humanos (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000; ISLA; MORENO; SAMPIETRO, 2001). A produção de própolis no Brasil é estimada em torno de 100 toneladas anuais, sendo grande parte destinada à exportação, tanto na forma bruta como em produtos manufaturados (ABEMEL, 2016).

Tabela 3. Composição do própolis.

COMPONENTES	PORCENTAGENS
Resinas e bálsamos	50 – 60
Óleos essenciais	5- 10
Grãos de pólen	5
Microelementos	Al, Ca, Es, Fe, Cu, Mn
Vitaminas: B1, B2, B6, C e E	Pequenas quantidades

Fonte: LASTRA (2004).

O pólen é o gameta masculino das flores coletado pelas abelhas e transportado para a colmeia para ser armazenado nos alvéolos e passar por um processo de fermentação. Usado como alimento pelas abelhas na fase larval e abelhas adultas com até 18 dias de idade, é a principal fonte de proteínas, minerais, vitaminas, gorduras e aminoácidos (Tabela 4) (CARON, 2010). Em virtude do seu alto valor nutritivo é usado como suplementação alimentar, comercializado misturado com o mel, seco, em cápsulas ou tabletes (EMBRAPA, 2003).

Tabela 4. Composição do pólen.

COMPONENTES	PORCENTAGENS
Proteína	35
Hidratos de carbono	40
Gorduras	5
Minerais	3
Umidade	3-4
Além de ácido pantotênico, niacina, ácido fólico, cianocobalamina e vestígios de vitaminas A, C, D e E.	

Fonte: LASTRA (2004).

A geleia real é produzida pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares encontradas na cabeça das abelhas operárias com 5 a 12 dias de idade. A geleia real tem três funções: alimentação das larvas de abelhas operárias com até 90 horas de vida, da abelha rainha durante toda a sua vida, ou então, das pupas de zangões durante toda a sua maturação (PAMPLONA; AZEDO; OLIVEIRA, 2004). A indústria de cosméticos e medicamentos também a utilizam na composição de diversos produtos.

A apitoxina é o veneno das abelhas operárias de *A. mellifera* purificado. O veneno é constituído basicamente de proteínas, polipeptídios e constituintes aromáticos, sendo produzido pelas glândulas de veneno nas duas primeiras semanas de vida da operária e armazenado no reservatório de veneno situado na base do ferrão (ALIA; LAILA; ANTONIOUS, 2013). Cada operária produz 0,3 mg de veneno, que é uma substância transparente, solúvel em água e composta de proteínas, aminoácidos, lipídios e enzimas (EMBRAPA, 2003).

Além de todos os produtos mencionados acima e aproveitados pelo homem, as abelhas são as principais responsáveis pela polinização, um processo necessário às plantas superiores (MARCOS, 2005). Esta auxilia na reprodução sexuada das plantas, que ocorre quando estão em fase de floração e são polinizadas por transporte de pólen encontrado nas anteras (parte masculina das flores) para o estigma (parte feminina da flor), da mesma planta ou de uma para outra. Estima-se que um terço das plantas utilizadas na alimentação humana sejam polinizadas por insetos, particularmente abelhas. No caso de plantas que produzem frutos, a produção de sementes pode diminuir em mais de 90% se as abelhas desaparecerem (BRADBEAR, 2005).

No entanto, nos últimos anos, observou-se um declínio significativo no número de abelhas, impactando negativamente na polinização de plantas nativas e cultivadas, e consequentemente na produção de mel e os outros produtos derivados das abelhas (ENGELSDORP et al., 2008).

O declínio dos polinizadores foi quantificado inicialmente na América do Norte. Em 2006, foi apresentada a primeira avaliação, onde foi verificada uma acentuada queda no número de colônias manejadas nos Estados Unidos. De acordo com o Serviço de Estatística Nacional da Agricultura (2008), o número de colônias manejadas neste país diminuiu de 5,9 milhões, em 1947, para 2,44 milhões, em fevereiro de 2008, mas não foram consideradas colônias que são manipuladas somente para contratos de polinização, nem apicultores que possuem menos de cinco colmeias.

Atualmente, o maior problema da apicultura mundial relaciona-se ao já conhecido desaparecimento das abelhas ou síndrome do colapso das abelhas colônias (Colony Collapse Disorder ou CCD). Essa síndrome corresponde ao desaparecimento repentino das abelhas ou à redução, em poucos dias, do tamanho da colônia com rainha, mesmo na presença de crias, pólen e mel, sem deixar vestígios de morte de abelhas (OLDROYD, 2007; ENGELSDORP et al., 2008; AIZEN; HARDER, 2009;; POTTS et al., 2010).

Não foi detectado o agente causador da CCD. Acredita-se que exista uma complexa interação entre vários fatores e um efeito sinérgico entre eles que resultam no colapso ou desaparecimento das colônias (ENGELSDORP e MEIXNER, 2010). Entre estes fatores estão a perda de habitats, o uso de sistemas de monocultura, o estresse no transporte entre as áreas de polinização, o uso de agrotóxicos e diversas doenças (ENGELSDORP et al., 2008).

1.2. Doenças das abelhas

Segundo van Engelsdorp e Meixner (2010) as abelhas apresentam doenças responsáveis pela perda de colônias tal como a nosemose, que é causada por protozoários (microsporídios) do gênero *Nosema*. Os prejudiciais às abelhas são *Nosema apis* e *Nosema ceranae*, e mesmo que seus efeitos ainda não sejam conhecidos, acredita-se que os sintomas clínicos de desinteira ou diarreia sejam causados por *N. apis*, enquanto que sintomas inespecíficos de abelhas cambaleantes, como tremores e má locomoção ou voo, possam estar mais associados a *N. ceranae*. Nos últimos anos, a doença não tem sido relatada ou qualificada como causadora de problemas no Brasil (SILVEIRA, 2010).

Também existem doenças causadas por cerca de 18 diferentes vírus, dentre os quais podem ser citados como mais recorrentes: o vírus de células reais negras (BQCV), vírus filamentosos (FV), o vírus de asas deformadas (DWV), vírus da paralisia crônica (CBPV), vírus da paralisia aguda (ABPV) e, vírus da paralisia Israelita (IAPV). Os sintomas clínicos das viroses variam e são inespecíficos, muito embora, alguns deles tenham sido associados, a abelhas com asas deformadas ou opacas, abelhas sem pelos e com aspecto lustroso, abelhas com tremores ou paralisadas (AUBERT et al., 2007). Porém, o ácaro *Varroa destructor* é um dos maiores problemas para as abelhas, pois além de ser um parasita, facilita o estabelecimento de outras doenças como os vírus citados anteriormente, e estudos revelam que colmeias infestadas por *V. destructor* levam ao surgimento de abelhas fracas, com imunidade comprometida, grupo em que as viroses conseguem se instalar e causar significativa morbidade e mortalidade (SILVEIRA, 2010).

1.3. *Varroa destructor* Anderson e Trueman (2002)

O parasita é da ordem Parasitiformes, Subordem Mesostigmata, Família Varroidae (ANDERSON; TRUEMAN, 2000). Os efeitos da infestação de *V. destructor* em *A. mellifera* aparecem em diferentes intensidades em distintas regiões do mundo onde o parasita se estabeleceu. Em geral, as abelhas africanas e seus híbridos apresentam maior tolerância ao parasita, sem perdas graves para a apicultura (MONTIEL; PIOLA, 1976; DE JONG; GONÇALVES; MORSE, 1984).

O ácaro *V. destructor* é conhecido como o maior inimigo das abelhas em todo o mundo (SAMMATARO; GERSON; NEEDHAM, 2000). O parasita se espalhou com o aumento da velocidade da migração e comércio das abelhas. Na apicultura global *V. destructor* causou um impacto negativo, por isso tem sido necessária a avaliação da sua dispersão. Nas décadas de 1960 e 1980 foi detectado na Europa Oriental, seguindo a importação de abelhas da Indonésia, e em poucos anos se espalhou para a Grécia (1975), Alemanha (1977), Itália (1980), França (1982), Holanda (1983), Israel (1984) e Espanha (1985), mas só foi oficialmente registrado pelo controle de organismos em 1986 (PENG et al., 1987).

De acordo com De Jong, Gonçalves e Morse (1984) a infestação na América do Sul teria sido causada pela doação de abelhas do Japão para o Paraguai em 1971, a praga foi introduzida no Brasil, em 1972, por meio da importação de rainhas e crias infestadas vindas do Paraguai e foi descrita pela primeira vez em 1978, em Piracicaba, Estado de São Paulo (ALVES et al., 1979). Em menos de 10 anos, *V. destructor* já havia se dispersado para todos os estados que praticam a apicultura com *A. mellifera* (DE JONG et al., 1984; MORETTO et al., 1991).

Na Argentina (1976) em colmeias de Laguna Blanca, Província de Formosa, no Estados Unidos (1987) (CASANUEVA, 1992). No México, o ectoparasita vem se expandindo desde 1990, afetando a produção de mel (VELASCO; NOVOA, 2000).

Na Venezuela, foi registrado pela primeira vez em apiários localizados no estado de Barinas, em 1991 (PRINCIPAL; SANTOS; LAGUNA, 1991). Posteriormente, Coronado, BARRIOS e MUJICA (1997), relataram no centro-oeste do país colônias de abelhas com infestação de 5 a 452 ácaros por colmeia. O Chile detectou presença do ácaro em março de 1992 (FREDES, 1993).

A Argentina o tem considerado um parasita hiperendêmico (BACCI, 2007). No Canadá (Ontario) Guzman et al. (2007) demonstraram o impacto devastador do ácaro sobre o tamanho e a força de mais de 400 colônias avaliadas em diferentes períodos sazonais. Efeitos similares foram relatados nos Estados Unidos (PETTIS; DELAPLANE, 2010) e na Europa (HIGES, 2005). Em Portugal foram relatadas colônias infestadas com *V. destructor* que foram

responsáveis pela perda de 45% da capacidade produtiva de mel em relação a colônias não infestadas (MURILHAS, 2002).

O ciclo de vida da fêmea de *V. destructor* caracteriza-se por ter duas fases distintas: forética, quando a fêmea adulta de *V. destructor* parasita abelhas operárias e zangões adultos, e reprodutiva, quando a fêmea adulta abandona as abelhas operárias e zangões e invade as células de cria para realizar a postura (Figura 1) (IFANTIDIS, 1988; DE JONG, 1988).

Figura 1. Fases do ciclo de vida de *V. destructor*

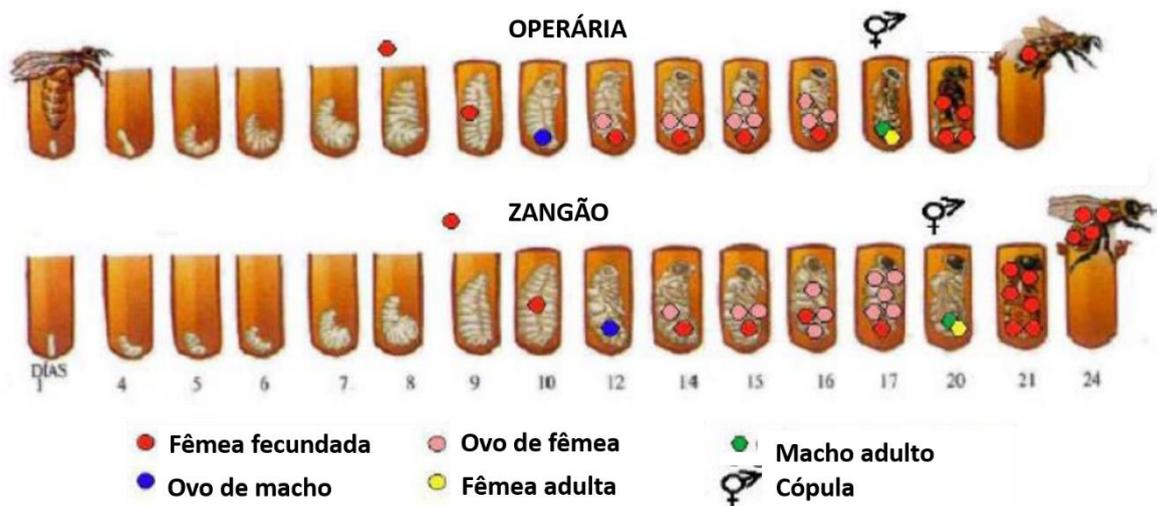


Fonte: DE JONG (1988).

A fêmea fértil do ácaro começa o ciclo biológico ao entrar na célula de cria e podem entrar uma ou mais fêmeas. Uma vez dentro das células ela permanece imóvel até que a larva começa seu crescimento. Então suga a hemolinfa das crias da abelha e coloca o primeiro ovo que resulta em um ácaro macho. Quando isso acontece, já se passaram entre 60 a 70h da entrada do ácaro na célula. Trinta horas mais tarde a fêmea coloca outro ovo, que vai dar origem a uma fêmea, depois deste momento ela continua a sua oviposição a cada 30 h com ovos que darão origem apenas a fêmeas (VERDE, 2001).

Quando o macho atinge a maturidade sexual fertiliza suas irmãs, que mantêm o esperma na espermateca e, após o acasalamento, o macho morre. O período de desenvolvimento das fêmeas de ovo até adulto é de oito a nove dias, enquanto que nos machos é de seis a sete dias. Quando as operárias ou zangões completam seu desenvolvimento, surgem da célula em conjunto com as fêmeas reprodutoras de *V. destructor* que podem reiniciar o ciclo (Figura 2) (MORENO, 2010).

Figura 2. Ciclo de reprodução de *V. destructor*.



Fonte: MORENO (2010).

Os diferentes estágios são ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto (Figura 3). O ovo mede 0,5 mm de diâmetro, tem forma esférica e é esbranquiçado. A protoninfa, também com formato esférico ou redondo é esbranquiçada e com 0,7 mm. A fêmea deutoninfa é semelhante ao adulto, é esbranquiçada - marrom e mede cerca de 1 mm e o macho é branco - cinza e mede 0,7 mm (SAMMATARO; GERSON; NEEDHAM ,2000). A fêmea adulta é oval, mede 1,1 mm de comprimento e 1,6 mm de largura, a cor dela varia de castanho claro ao castanho escuro, sendo que ela conta com quatro pares de pernas. O macho adulto mede 0,7 mm de comprimento e largura, é esférico de cor cinza-bege e tem quatro pares de pernas. Ao contrário da fêmea, o macho não emerge da célula, já que tem seu ciclo de desenvolvimento só no interior da mesma (RITTER, 2001).

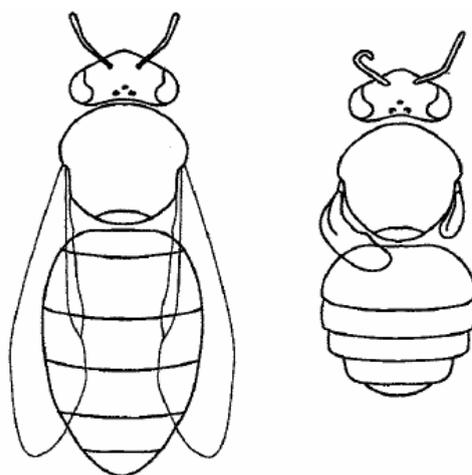
Figura 3. Estágios de vida do ácaro *V. destructor*.



Fonte: ROSENKRANZ; AUMEIER; ZIEGELMANN (2010).

No início da infestação há presença de abelhas fracas rastejando no chão e outras mortas ao redor da colmeia. Após um ano, os sinais de presença de *V. destructor* são evidentes. Segundo Ritter (2001), também é possível verificar a presença de operárias com malformações nas asas e abdômen (Figura 4). Devido à ação irritante causada pelo parasita, a abelha apresenta um comportamento destrutivo no interior da célula para tentar remover o ácaro. A lesão que ocorre no exoesqueleto pode causar o aparecimento de doenças secundárias. Nos favos de mel são observados opérculos furados e deformados em resposta ao trabalho das operárias na detecção do ácaro (ROSENKRANZ et al., 2010).

Figura 4. Efeito de *V. destructor* na morfologia da abelha. Esquerda: aparência normal da abelha. Direita: abelha fortemente atacada pelos ácaros, apresenta deformação de asas e redução do volume abdominal.



Fonte: ROSENKRANZ et al. (2010).

Foi realizado um estudo no México onde uma colmeia que apresentava um nível de 6,8% de infestação por *V. destructor* produzia 65,5% menos mel do que outra protegida por tratamento químico de fluvalinato (MURILHAS, 2002). Por isso, um dos fatores mais importantes para a obtenção de um alto rendimento na apicultura é a sanidade da colmeia, sendo que a incidência dos ácaros diminui sua população (CHEN et al., 2009).

A infestação pelo ácaro nos apiários pode causar perdas de 50% a 80% da colmeia quando não se realiza nenhum tratamento de controle, ou até mesmo a colmeia completa (RODRIGUEZ; GERDING, 2005).

Nos anos de 1996 e 1997 em duas cidades de Cuba foi registrada uma perda de mais de 10.000 colmeias, nas quais a mortalidade não só se atribuiu aos principais danos causados pelo ácaro, mas também a outras doenças que foram infestadas por ele (VERDE; CHAN, 2005).

No combate ao ácaro *V. destructor*, tornou-se comum em diversos países o uso de várias classes de agrotóxicos, tais como, organofosforados, organoclorados e piretróides (MILANI, 1995; HIGES, 1999). O uso destes produtos causa diversos problemas que vão desde a toxicidade dos subprodutos da colmeia, como mel, cera, pólen etc. (GAMBER, 1990; BOOT et al., 1995; WALLNER, 1995), ao aumento da resistência de populações do ácaro (LODESANI et al., 1995; THOMPSON et al., 2002). No Congresso da Federação Internacional das Associações de Apicultores de 1979, o professor Dr. Lionel Segui Gonçalves convenceu os apicultores e pesquisadores pelo não uso de agrotóxicos no controle do ácaro *V. destructor* no Brasil, deixando que as abelhas controlassem a praga, o que levou nossas abelhas a se tornarem resistentes ao ácaro (MEDINA; MARTIN, 1999). Entretanto, de acordo com Garrido et al. (2003), depois houve uma substituição por um haplótipo mais virulento de *V. destructor* e um aumento na habilidade reprodutiva de fêmeas de *V. destructor* em colônias de abelhas africanizadas (CARNEIRO et al., 2007).

Para o controle do ácaro pode se utilizar métodos alternativos, biológicos e químicos. Existem substâncias utilizadas para o controle do ácaro, conhecidas como produtos alternativos, entre eles se encontram os ácidos orgânicos (ácido fórmico, láctico e oxálico) e também os óleos essenciais como o timol. Os produtos são baratos, compatíveis com a agricultura orgânica e não contaminam os produtos das abelhas (RITTER, 2001; MEDINA; MAY, 2005).

Os óleos essenciais servem a várias funções nas plantas, entre elas a de defendê-las contra o ataque de insetos, ácaros e patógenos, ao exercer efeito tóxico nesses organismos (DAMIANI et al., 2009). Baggio et al. (2004) constataram que muitos desses óleos mostraram atividade acaricida no controle do endoparasita *Acarapis woodi* Rennie (1921). Segundo Damiani et al. (2009), esses produtos são eficazes no controle de *V. destructor* e podem ser utilizados na redução dessa praga.

O timol, composto farmacologicamente ativo, é extraído do óleo essencial do tomilho e sua eficiência acaricida já foi comprovada por Stanghellini e Raybold (2004) e May-Itzá; Medina; Olivares (2007). Outro composto testado é o ácido oxálico e pesquisas mostraram que este produto é altamente eficaz no controle de *V. destructor* e o controle é mais efetivo quando a colônia possui pouca ou nenhuma cria operculada (GREGORC; PLANINC, 2002, CASTAGNINO; ORSI, 2012). Diferentes formas de aplicação com diferentes concentrações de ácido oxálico já foram testadas, tendo como resultado diferentes índices de mortalidade de *V. destructor*. Em experimento com solução composta de 2,9% de ácido oxálico, em 31,9% de açúcar diluído em água, Gregorc e Poklukar (2003) observaram controle superior a 97%. Toomemaa; Martin; Williams (2010), ao aplicar solução de 0,5% de ácido oxálico em colônias com pouca cria operculada, obtiveram 92% de eficácia sem apresentar toxicidade para as abelhas.

O timol é extraído a partir do óleo essencial natural de tomilho ou de outras plantas (CALDERONE, 1999). As folhas de tomilho contêm timol (10- 64%), carvacrol (2-11%), terpineno (2-31%) e p-cimeno (10-56%) (IMDORF et al., 1999). Já as folhas de planta de orégano contêm acima de 50% de timol, 7,8% de α -pineno, cineol, acetato de linalil, linalol, dipenteno, pcimeno e β -cariofileno (FARREL, 1995; PRAKASH, 1995).

O ácido oxálico é um composto encontrado em algumas frutas, plantas e mel (MUTINELLI et al., 1997). Segundo Burt (2004), as folhas de beterraba têm um alto conteúdo de ácido oxálico, além de vitaminas A, B, C, niacina, potássio, fosforo, cálcio, zinco, ferro, cobre e manganês. Também contém betaina, triptofano, betacianina, pectina, ácido pantotênico e ácido fólico (BADUI, 2006; MATOS et al., 2009).

O método biológico consiste em aproveitar a preferência do ácaro pelas larvas de zangão. Neste caso, o apicultor deve colocar no meio da colmeia um quadro com ovos de zangões para que as fêmeas de *V. destructor* sejam atraídas. Depois da operculação das células o apicultor deve fazer a retirada e destruição das mesmas e assim evitar a dispersão da infestação (VERDE, 2001).

Em alguns países, assim como no Brasil, muitos dos tratamentos químicos são proibidos, mas os apicultores fazem uso deles assim mesmo. No México, na Argentina e na Europa, por exemplo, os compostos flumetrina e fluvalinato (piretroides) são permitidos, só que não são compatíveis com a apicultura orgânica (WALLNER, 1999).

Os tratamentos acaricidas químicos reduzem as populações de ácaros nas abelhas, mas apresentam desvantagens ao contaminar os produtos das colmeias, além de tornar os ácaros mais resistentes (MARCANGELLI, 2003).

A flumetrina é um piretroide sintético de uso apícola utilizado para o combate de *V. destructor*. Sua atividade farmacológica afeta os canais de sódio, provocando sua abertura prolongada e permitindo a alta fluência deste íon, gerando efeitos subletais e adversos no sistema nervoso (ZLOTKIN, 1999; GRÜNEWALD; WERSING, 2004). Estes efeitos tóxicos podem alterar processos importantes envolvidos no comportamento, funções cognitivas, e outros processos fisiológicos (MAMOOD; WALLER, 2008).

No Brasil, a incidência de *V. destructor* não causa grandes perdas de abelhas, mas foi comprovado que a doença já se encontra presente nos apiários de diferentes partes do país. As perdas apresentadas em outros países e a necessidade do uso de produtos químicos para seu controle foram as principais causas da realização deste experimento, já que no Brasil a doença ainda não causou grandes danos, mas não se descarta o risco de seleção de ácaros mais daninhos ao ponto das abelhas não conseguirem controlar as populações do ácaro. Já foram realizados

neste e em outros países experimentos com diferentes óleos essenciais com resultados positivos no controle de *V. destructor*. Porém os apicultores não as utilizam devido à dificuldade em obtê-las, principalmente em condições de campo. Assim, é extremamente importante que se identifique métodos de controle de *V. destructor* que não afete as abelhas e seus produtos e que seja de fácil obtenção pelas associações de apicultores.

Também foi testado um princípio ativo permitido em diferentes partes do mundo para comprovar se o uso dele poderia se comparar com os resultados obtidos da aplicação de destilados de plantas. Cabe mencionar que no Brasil não está permitido o uso de agrotóxicos nas abelhas para o controle de *V. destructor*, mas alguns apicultores usam ilegalmente. Assim, há um incentivo à pesquisa de métodos alternativos para o controle do ácaro para demonstrar o potencial de substituir os produtos químicos e ainda não prejudicar as abelhas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a eficiência de três métodos: alternativo, biológico e químico no controle de *V. destructor* em *A. mellifera*.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar qual destes três métodos é mais eficiente no controle do ácaro.
- Avaliar qual destes três métodos é o mais protetor para as abelhas *A. mellifera*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Locais de estudo

Os experimentos foram realizados no primeiro semestre de 2016 nos laboratórios didáticos de Biologia e Química do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, SP. A coleta foi realizada no apiário do Centro de Estudos de Insetos Sociais, Instituto de Biociências, Departamento de Biologia da Universidade Estadual Paulista " Júlio de Mesquita Filho " – UNESP, Campus Rio Claro, SP.

3.2. Coleta dos favos infestados com *V. destructor*

Foram coletados no apiário da UNESP, Campus Rio Claro, favos de diferentes colmeias (A, B, C) contendo células de cria de operárias e zangões para a seleção de abelhas infestadas por *V. destructor* (Figura 5).

Figura 5. Favos com células de cria de abelhas operárias *A. mellifera* e zangões de *A. mellifera* infestadas com *V. destructor*.

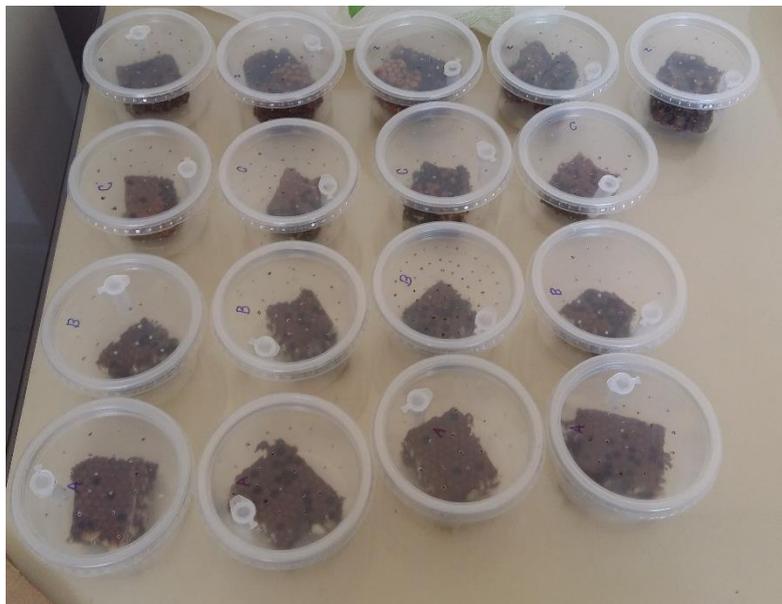


Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Foram utilizadas as normas da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OECD) de 1998, para os delineamentos de número de abelhas utilizadas, temperatura, contagem da mortalidade e porcentagem permitido de mortalidade, sujeitas a adaptações porque as normas são para abelhas europeias e o trabalho foi feito com abelhas africanizadas.

Os favos coletados foram divididos e colocados em recipientes de plástico de 250 mL de forma aleatória, mantidos em B.O.D. a $\pm 34^{\circ}\text{C}$, até a emergência das operárias e zangões (Figura 6).

Figura 6. Recipientes com as células de cria de operárias e zangões.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Após a emergência, as abelhas foram separadas em conjuntos de 20 abelhas operárias e foram acondicionadas nos grupos experimentais (Figura 7). Os zangões ficaram nos mesmos recipientes para serem utilizados no tratamento biológico.

Figura 7. Recipientes experimentais com abelhas operárias.



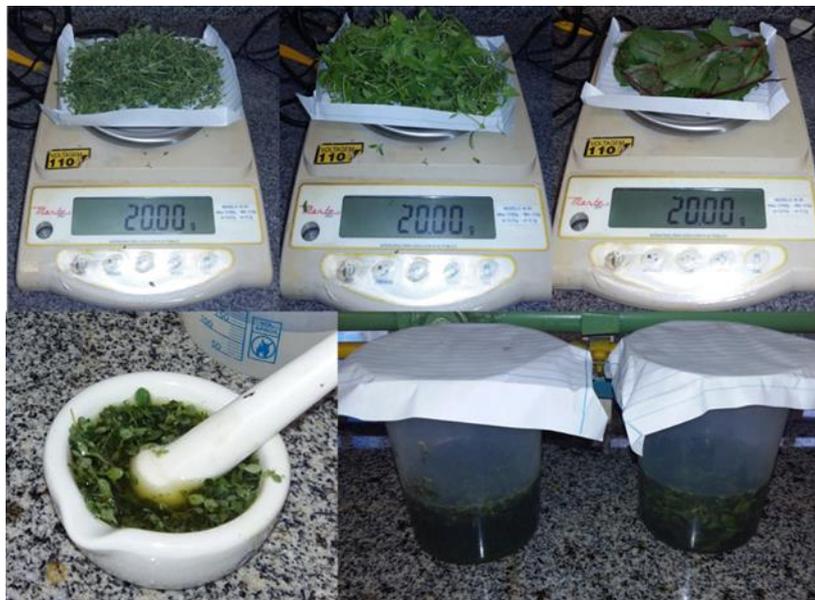
Fonte: Arquivo pessoal (2016).

3.3. Método alternativo

Foram selecionadas três plantas: beterraba, tomilho e orégano, que foram compradas no mercado e foi pesquisado que se encontravam livres de agrotóxicos. Das quais se usaram as folhas e partes finas dos talhos de tomilho e orégano e só folhas de beterraba. Foram propostas para a aplicação as dosagens descritas a seguir por não existir na literatura a medida correta estimada a ser utilizada para a metodologia proposta.

Primeiramente, foram usadas 20g de folhas e talhos finos de cada uma das plantas correspondentemente, triturados e macerados em 300 mL de água destilada, onde permaneceram durante 1 hora (Figura 8).

Figura 8. Dosagem e maceração das plantas.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Em seguida, os materiais sólidos e o líquido foram submetidos ao processo de destilação a vapor (Figura 9).

Figura 9. Destilação dos extratos.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

As destilações foram realizadas com controle de temperatura para evitar que as folhas das plantas contaminassem a solução final, já que o alto grau de ebulição transportava as folhas das plantas pelo vapor. A temperatura utilizada foi de 95 °C.

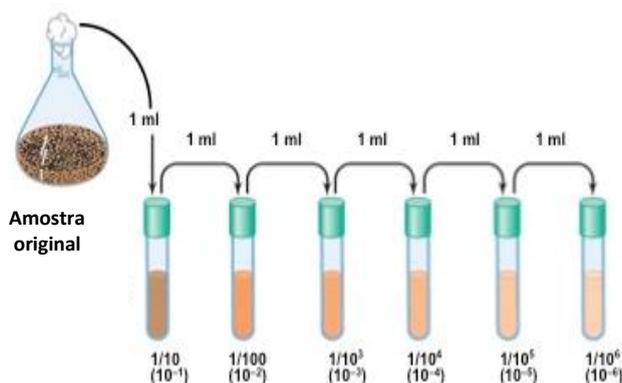
Obtidas as soluções de cada uma das três diferentes plantas, estas foram diluídas com água destilada para a obter as concentrações finais (Figura 10). A solução mãe resultante foi de 60 mL de conteúdo, da qual 30 mL foi novamente diluída em 30 mL de água destilada, assim sucessivamente até obter as quatro soluções, ou seja, solução mãe como primeira e depois as soluções 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} (Tortora et al., 2007) (Figura 11).

Figura 10. Soluções aplicadas.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Figura 11. Diluições seriadas das destilações.



Fonte: Tortora et al. (2007).

Foram estabelecidos três tratamentos, foram usadas três plantas: orégano, tomilho e beterraba, cada uma delas com quatro diferentes concentrações e três repetições de cada um, também houve o grupo de controle, que contou com três repetições nas quais aplicaram apenas água destilada, totalizando 39 grupos experimentais aleatorizados.

Utilizou-se recipientes com 20 abelhas que foram anestesiadas sob refrigeração por três minutos, e em seguida, foram aplicadas as soluções por meio de contato direto utilizando 2 mL da solução total para cada um dos recipientes (20 abelhas), o que significa que foi usado 0,1 mL de solução por abelha, exceto no controle, o qual foi aplicado apenas água destilada (Figura 12). Todos os grupos experimentais foram mantidos em B.O.D. à temperatura de $\pm 34^{\circ}\text{C}$. A mortalidade das abelhas foi anotada 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos tratamentos, para avaliar se os tratamentos causavam mortalidade nas abelhas (Figura 13).

Figura 12. Aplicação da solução nas abelhas.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Figura 13. Grupos experimentais das abelhas tratadas com as soluções.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Em seguida, foram estabelecidos os grupos experimentais para a aplicação das soluções nos ácaros utilizando o mesmo número de unidades experimentais (três plantas, quatro dosagens e três repetições de cada um, mais o controle com três repetições) tendo 10 ácaros por recipiente.

A aplicação das soluções foi por meio de contato direto, inserindo 0,5 mL da solução total para cada um dos recipientes (10 ácaros), resultando em 0,05 mL de solução por ácaro, exceto no controle, o qual havia apenas água destilada. Todos os grupos experimentais foram mantidos em B.O.D. à temperatura de $\pm 34^{\circ}\text{C}$. A mortalidade dos ácaros foi anotada 3, 6, 12 e 24 horas após a aplicação dos tratamentos (Figura 14).

Figura 14. Mortalidade dos ácaros após a aplicação dos tratamentos.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

A análise de variância foi aplicada para verificar se existiam diferenças significativas na mortalidade entre os diferentes tratamentos, sendo que as ferramentas utilizadas para a análise foram o programa estatístico R® e Office Excel®. Constatada a diferença, foi aplicado o teste de médias Tukey a 5% de significância.

3.4. Método biológico

Em três recipientes foram colocados favos com 20 células de zangões cada, e em outros três, com 20 células de operárias cada. Estes foram mantidos em B.O.D. a $\pm 34^{\circ}\text{C}$ (Figura 15) até a emergência das abelhas e, após a emergência, os indivíduos foram anestesiados sob refrigeração por três minutos. Em seguida, foi contado o número de ácaros a partir da observação pelo estereomicroscópio (Figura 16), permitindo verificar se os mesmos tinham mais preferência pelas larvas de zangões do que pelas operárias.

Figura 15. Células de cria de zangões.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Figura 16. Contagem de *V. destructor* em zangões.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

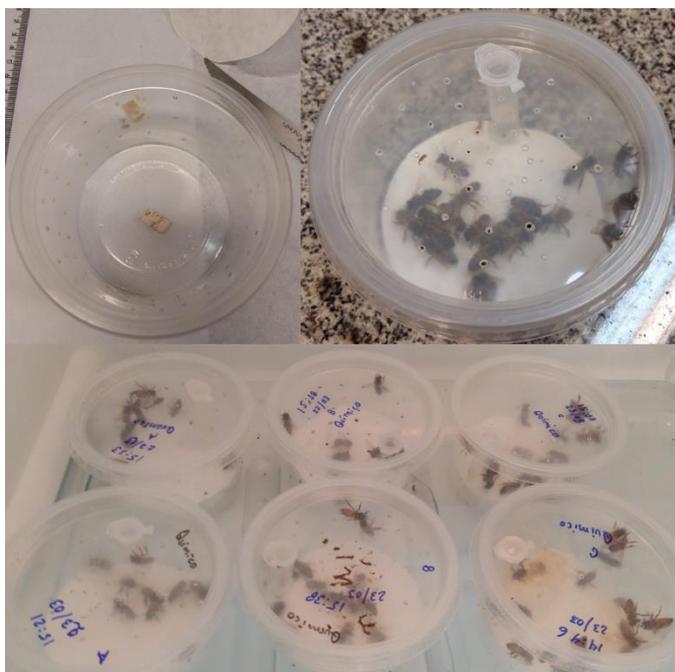
Foi aplicado um método de amostragem para determinar o nível de infestação, proposto por De Jong et al. (1984), no qual o número de ácaros é contado e dividido entre o número de abelhas e multiplicado por 100:

$$\% \text{ de infestação de abelhas} = \frac{\text{número de ácaros}}{\text{número de abelhas}} \times 100$$

3.5. Método químico

O experimento foi executado em triplicata, mas mantendo-se separadas as abelhas dos ácaros. Para cada recipiente haviam 20 abelhas com uma tira de papel com 0,008g de flumetrina e papel filtro sobre o tratamento químico para que elas não tivessem contato direto com o produto (Figura 17).

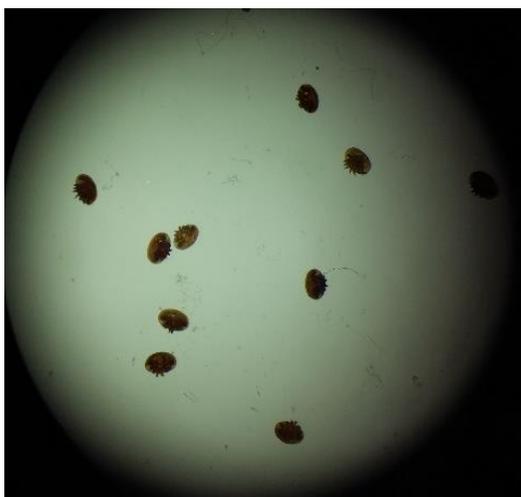
Figura 17. Experimento químico.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

A seguir, foi realizada a aplicação nos recipientes dos ácaros. Todos os grupos experimentais foram mantidos em B.O.D. à temperatura de $\pm 34^{\circ}\text{C}$. A mortalidade dos ácaros foi anotada 6, 12, 24 horas após a aplicação do tratamento. Foram observados os ácaros sob estereomicroscópio para verificar a eficiência da morte causada pelo tratamento (Figura 18).

Figura 18. Observação no estereomicroscópio dos ácaros mortos.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

4. RESULTADOS

4.1. Método alternativo

Após a aplicação das destilações nas abelhas, foi realizada a contagem da mortalidade observada em cada um dos grupos experimentais realizados a cada 12, 24, 48 e 72 horas nas abelhas e a cada 3, 6, 12 e 24 horas nos ácaros (Tabela 5).

Tabela 5. Contagem de mortalidade em abelhas e ácaros após a aplicação dos diferentes destilados.

Tratamentos	<i>A. mellifera</i>					Total de mortes	<i>V. destructor</i>				Total de mortes
	Mortalidade (horas)						Mortalidade (horas)				
	12	24	48	72	3		6	12	24		
controle	0	0	2	3	5	0	0	0	2	2	
Orégano 1	1	3	3	2	9	0	6	10	14	30	
Orégano 2	1	3	2	0	6	0	6	10	14	30	
Orégano 3	1	3	0	0	4	0	6	8	16	30	
Orégano 4	0	2	0	1	3	0	6	8	16	30	
Beterraba 1	1	3	5	5	14	0	10	11	9	30	
Beterraba 2	1	3	5	5	14	0	10	11	9	30	
Beterraba 3	0	2	4	5	11	0	8	11	11	30	
Beterraba 4	0	2	3	5	10	0	7	9	14	30	
Tomilho 1	0	1	1	3	5	5	10	15	0	30	
Tomilho 2	0	0	0	2	2	5	9	16	0	30	
Tomilho 3	0	0	0	1	1	5	11	14	0	30	
Tomilho 4	0	0	0	0	0	3	8	19	0	30	

Orégano, beterraba ou tomilho: 1 (solução mãe), 2 (solução 10^{-1}), 3 (solução 10^{-2}), 4 (solução 10^{-3}).

O número total de abelhas usadas por concentração foram 60, que é o total de três repetições (20 abelhas); e o número de ácaros usados foi de 30 que é o total de três repetições (10 ácaros). Os grupos experimentais das abelhas nos quais foram aplicadas as diferentes concentrações das soluções resultantes das destilações de orégano mostraram uma baixa mortalidade ao transcorrer das horas, apresentando uma mortalidade de abelhas de 5 a 15 %, pelo contrário nos ácaros apresentou uma mortalidade de 100 % ao transcorrer as 24 horas.

Os grupos experimentais das abelhas onde foram aplicadas as diferentes concentrações de beterraba, apresentaram no transcorrer das horas uma porcentagem de mortalidade de 16 a 23 %, e nos ácaros uma mortalidade de 100% as 24 horas.

Os grupos experimentais das abelhas onde foram aplicadas as diferentes soluções de tomilho, apresentaram no transcorrer das horas uma porcentagem de mortalidade de 0 a 8 %, e nos ácaros apresentou uma mortalidade de 100% as 12 horas.

Os grupos experimentais do controle em abelhas tiveram uma mortalidade de 8 % e no controle dos ácaros teve uma mortalidade de 6 %. De acordo com a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (1998), a mortalidade aceita neste experimento foi de 10% nas abelhas.

Os dados obtidos da mortalidade de abelhas durante o experimento foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), com um nível de significância de 5%, e com um valor de P de $> 0,05$, para testar qual das espécies de plantas utilizadas foi a melhor no controle do ácaro e sem causar mortalidade nas abelhas (Tabela 6).

Tabela 6. Valores de análise de variância das diferentes plantas na mortalidade das abelhas

Estadística F	Valor de P
31.45	4.84e-10 ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Os dados obtidos da mortalidade dos ácaros durante o experimento foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5%, e com um valor de P de $> 0,05$, (Tabela 7).

Tabela 7. Valores de análise de variância das diferentes plantas na mortalidade dos ácaros

Estadística F	Valor de P
175.5	$<2e-16$ ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Tendo como resultado que o valor de P é significativo na mortalidade de abelhas e ácaros. Estes dados levam a não aceitar a hipótese nula que diz que todos os destilados do experimento causaram o mesmo grau de mortalidade e não houve diferença significativa. Tornou-se então necessário realizar a prova de médias Tukey para determinar qual ou quais dos tratamentos tem diferença na mortalidade das abelhas e dos ácaros (Tabela 8).

Tabela 8. Diferença significativa entre tratamentos e controle na mortalidade de abelhas e ácaros

Tratamentos	<i>A. mellifera</i>					<i>V. destructor</i>				
	Mortalidade (horas)					Mortalidade (horas)				
	12	24	48	72	Total de mortes	3	6	12	24	Total de mortes
Controle	0	0	2	3	5^a	0	0	0	2	2^a
Orégano	3	11	5	3	22^b	0	24	36	60	120^b
Beterraba	2	10	17	20	49^c	0	35	42	43	120^b
Tomilho	0	1	1	6	8^a	18	38	64	0	120^c

Os resultados do teste de médias Tukey na mortalidade das abelhas mostra que existem diferenças significativas entre os tratamentos de orégano e beterraba em função ao controle, sendo o tratamento de tomilho o único que não apresentou diferença significativa em função ao controle, isso quer dizer que o tomilho ao igual que o controle não apresentou mortalidade significativa.

Os resultados do teste de médias Tukey da mortalidade dos ácaros comprovam que existem diferenças significativas entre todos os tratamentos em função ao controle, exceto o tratamento orégano-beterraba por não ter apresentado diferenças significativas na mortalidade.

O teste de médias Tukey comprovou que o tratamento de tomilho foi melhor por ser o único que não apresentou diferença significativa em função ao controle porque não apresentou morte significativa nas abelhas e apresentou diferença significativa em comparação ao controle nos ácaros o que quer dizer que matou todos os ácaros.

Também foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), os dados obtidos da mortalidade de abelhas e ácaros por concentração de cada planta, com um nível de significância de 5%, e com um valor de P de $> 0,05$, para testar qual das concentrações de cada planta utilizada foi a melhor no controle do ácaro, sem causar mortalidade significativa nas abelhas. Na tabela 9 mostra-se os valores da análise de variância das diferentes concentrações feitas por as destilações de orégano nas abelhas.

Tabela 9. Valores de análise de variância das concentrações de orégano nas abelhas

Estadística F	Valor de P
2.005	0.17

Tendo como resultado que o valor de P não é significativo. Estes dados levam a aceitar a hipótese nula que diz que todas as concentrações de orégano causaram o mesmo grau de mortalidade nas abelhas e não houve diferença significativa.

Também os dados obtidos da mortalidade dos ácaros nas diferentes concentrações das destilações de orégano foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5%, e com um valor de P de $> 0,05$, (Tabela 10).

Tabela 10. Valores de análise de variância das concentrações de orégano nos ácaros

Estatística F	Valor de P
586	8.27e-12 ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Tendo como resultado que o valor de P é significativo na morte dos ácaros em função ao controle, estes dados levam a não aceitar a hipótese nula pelo que foi necessário realizar a prova de médias Tukey, para determinar qual ou quais das concentrações de orégano tem diferença na mortalidade dos ácaros (Tabela 11).

Tabela 11. Diferença significativa das concentrações de orégano e controle nas abelhas e ácaros

Tratamentos	<i>A. mellifera</i>					<i>V. destructor</i>				
	Mortalidade (horas)					Mortalidade (horas)				
	12	24	48	72	Total de mortes	3	6	12	24	Total de mortes
Controle	0	0	2	3	5 ^a	0	0	0	2	2 ^a
Orégano 1	1	3	3	2	9 ^a	0	6	10	14	30 ^b
Orégano 2	1	3	2	0	6 ^a	0	6	10	14	30 ^b
Orégano 3	1	3	0	0	4 ^a	0	6	8	16	30 ^b
Orégano 4	0	2	0	1	3 ^a	0	6	8	16	30 ^b

Orégano: 1 (solução mãe), 2 (solução 10^{-1}), 3 (solução 10^{-2}), 4 (solução 10^{-3}).

Os resultados do teste de médias Tukey na mortalidade dos ácaros comprovam que existem diferenças significativas entre todas as concentrações em função ao controle, e não se apresentou diferença significativa entre as diferentes concentrações, isso quer dizer que todas as concentrações apresentaram morte significativa em função ao controle.

Na tabela 12 mostra-se os valores da análise de variância das diferentes concentrações feitas por as destilações de beterraba nas abelhas.

Tabela 12. Valores de análise de variância das concentrações de beterraba nas abelhas

Estatística F	Valor de P
5.9	0.0105 *

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Também os dados obtidos da mortalidade dos ácaros nas diferentes concentrações das destilações de beterraba foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5%, e com um valor de P de > 0,05, (Tabela 13).

Tabela 13. Valores de análise de variância das concentrações de beterraba nos ácaros

Estatística F	Valor de P
114	2.69e-08 ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Tendo como resultado que o valor de P é significativo na mortalidade das abelhas e dos ácaros, estes dados levam a não aceitar a hipótese nula. Pelo que foi necessário realizar a prova de médias Tukey, para determinar qual ou quais das concentrações de beterraba tem diferença na mortalidade das abelhas e dos ácaros (Tabela 14).

Tabela 14. Diferença significativa das concentrações de beterraba e controle na mortalidade de abelhas e ácaros

Tratamentos	<i>A. mellifera</i>					Total de mortes	<i>V. destructor</i>				Total de mortes
	Mortalidade (horas)						Mortalidade (horas)				
	12	24	48	72			3	6	12	24	
Controle	0	0	2	3	5 a	0	0	0	2	2 a	
Beterraba 1	1	3	5	5	14 b	0	10	11	9	30 b	
Beterraba 2	1	3	5	5	14 b	0	10	11	9	30 b	
Beterraba 3	0	2	4	5	11 ab	0	8	11	11	30 b	
Beterraba 4	0	2	3	5	10 ab	0	7	9	14	30 b	

Beterraba: 1 (solução mãe), 2 (solução 10⁻¹), 3 (solução 10⁻²), 4 (solução 10⁻³).

Os resultados do teste de médias Tukey da mortalidade das abelhas comprovam que existem diferenças significativas entre as concentrações de beterraba 1 e 2 em função ao controle, e não se apresentou diferença significativa entre as concentrações 3 e 4 em função ao controle, além de não se apresentar diferença entre concentrações, isso quer dizer que unicamente as concentrações um e dois apresentaram mortalidade significativa em função ao controle.

Os resultados do teste de médias Tukey da mortalidade dos ácaros comprovam que existem diferenças significativas entre todas as concentrações de beterraba em função ao controle, e não se apresentou diferença significativa entre as diferentes concentrações, isso quer dizer que todas as concentrações causaram morte significativa em função ao controle.

Na tabela 15 mostra-se os valores da análise de variância das diferentes concentrações feitas por as destilações de tomilho nas abelhas.

Tabela 15. Valores de análise de variância das concentrações de tomilho nas abelhas

Estatística F	Valor de P
5.9	0.0105 *

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Também os dados obtidos da mortalidade dos ácaros nas diferentes concentrações das destilações de tomilho foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5%, e com um valor de P de > 0,05, (Tabela 16).

Tabela 16. Valores de análise de variância das concentrações de tomilho nos ácaros

Estatística F	Valor de P
368	8.34e-11 ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Tendo como resultado que o valor de P é significativo na mortalidade de abelhas e ácaros, estes dados levam a não aceitar a hipótese nula, pelo que foi necessário realizar a prova de médias Tukey, para determinar qual ou quais das concentrações de tomilho tem diferença na mortalidade das abelhas e dos ácaros (Tabela 17).

Tabela 18. Diferença significativa das concentrações de tomilho e controle nas abelhas

Tratamentos	<i>A. mellifera</i>					<i>V. destructor</i>				
	Mortalidade (horas)					Mortalidade (horas)				
	12	24	48	72	Total de mortes	3	6	12	24	Total de mortes
controle	0	0	2	3	5 a	0	0	0	2	2 a
Tomilho 1	0	1	1	3	5 a	5	10	15	0	30 b
Tomilho 2	0	0	0	2	2 a	5	9	16	0	30 b
Tomilho 3	0	0	0	1	1 ab	5	11	14	0	30 b
Tomilho 4	0	0	0	0	0 ab	3	8	19	0	30 b

Tomilho: 1 (solução mãe), 2 (solução 10^{-1}), 3 (solução 10^{-2}), 4 (solução 10^{-3}).

Os resultados do teste de médias Tukey na mortalidade das abelhas comprovam que não existem diferenças significativas das concentrações em função ao controle, mas as concentrações de tomilho 3 e 4 apresentam diferença em função as concentrações 1 e 2, isso quer dizer que nenhuma concentração apresentou mortalidade de abelhas em comparação ao controle, mas a concentração 1 e 2 apresentaram mais mortalidade do que a 3 e 4.

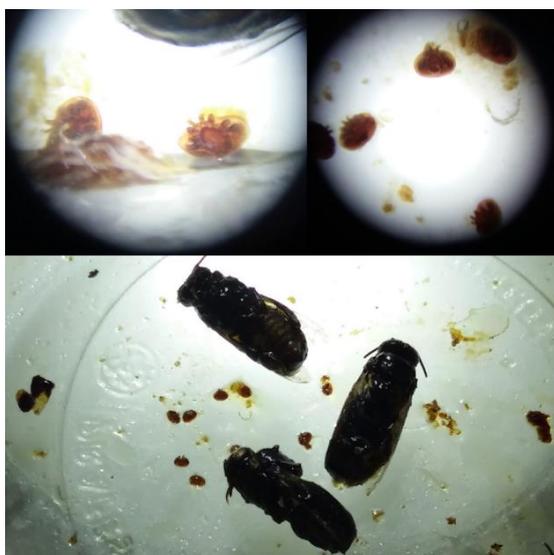
Os resultados do teste de médias Tukey na mortalidade de ácaros comprovam que existem diferenças significativas entre todas as concentrações de tomilho em função ao controle, e não se apresentou diferencia significativa entre as diferentes concentrações, isso quer dizer que todas as concentrações apresentaram morte significativa nos ácaros em comparação ao controle.

4.2. Método biológico

Os favos que foram coletados e continham células de cria de operárias e zangões foram das mesmas colmeias. As abelhas operárias emergidas não apresentaram infestação pelo ácaro *V. destructor* e, em contrapartida, os zangões estavam altamente infestados.

Foram observados os grupos experimentais de zangões (Figura 19) para efetuar a contagem de infestação, tendo como resultado que cada um dos grupos apresentava um total de 9 a 14 ácaros por grupo de 20 zangões e grau de infestação de 45% a 70% (Tabela 21).

Figura 19. Presença de *V. destructor* em zangões.



Fonte: Arquivo pessoal

Tabela 21. Ácaros encontrados em zangões e porcentagem de infestação.

ZANGÕES	Ácaros encontrados	Porcentagem de infestação (%)
R1	9	45
R2	11	55
R3	14	70

(R1,R2,R3) repetição.

Por isso, foi possível concluir que *V. destructor* apresentou preferência pelas larvas de zangão do que pelas larvas de operárias.

4.3. Método químico

Após colocar o método químico nos recipientes das abelhas e nos ácaros, foi realizada a contagem da mortalidade observada em cada um dos grupos experimentais a cada 6, 12, 24, 48 horas e cada 3, 6, 12 horas respectivamente (Tabela 22).

Tabela 22. Contagem de mortalidade em abelhas e ácaros após a aplicação do controle químico e o controle

	<i>A. mellifera</i>					<i>V. destructor</i>				
Tratamentos	Mortalidade (horas)				Total de mortes	Mortalidade (horas)				Total de mortes
	12	24	48	72		3	6	12	24	
Controle	0	0	2	3	5	0	0	0	2	2
Químico	10	22	20	8	60	4	11	15	0	30

O número total de abelhas foram 60, que é o total de três repetições (20 abelhas); e o número de ácaros usados foi de 30 que é o total de três repetições (10 ácaros).

Os grupos experimentais das abelhas apresentaram 100% de mortalidade ao transcorrer das horas. Cabe mencionar que as abelhas apresentaram diarreia após as 6 horas da aplicação do tratamento e os grupos experimentais dos ácaros também apresentou 100% de mortalidade.

Os dados obtidos da mortalidade de abelhas durante o experimento foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), com um nível de significância de 5%, para comprovar se o controle químico apresentou diferença ao controle (Tabela 23).

Tabela 23. Valores de análise de variância do controle químico na mortalidade das abelhas

Estatística F	Valor de P
332.4	5.32e-05 ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Tendo como resultado que o valor de P é significativo. Estes dados levam a não aceitar a hipótese nula. Tornou-se então necessário realizar a prova de médias Tukey para comprovar que existe diferença significativa entre o controle químico e o controle na mortalidade das abelhas (Tabela 24).

Tabela 24. Diferença significativa entre o controle químico e controle na mortalidade das abelhas

Espécie	Valor de P
Químico-controle	0.000

Os resultados do teste de médias Tukey comprovam que existem diferenças significativas entre o controle químico e o controle, isso quer dizer que o controle químico causou mortalidade significativa nas abelhas ao contrário do controle que não apresentou mortalidade.

Os dados obtidos da mortalidade dos ácaros durante o experimento foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5% (Tabela 25).

Tabela 25. Valores de análise de variância do controle químico na mortalidade dos ácaros

Estatística F	Valor de P
434.6	3.13e-05 ***

0= '***', 0.001= '**', 0.01= '*'

Tendo como resultado que o valor de P é significativo, estes dados levam a não aceitar a hipótese nula. Pelo que foi necessário realizar a prova de médias Tukey, para comprovar que existe diferença significativa entre o controle químico e o controle na mortalidade das abelhas (Tabela 26).

Tabela 26. Diferença significativa entre o controle químico e controle na mortalidade dos ácaros

Espécie	Valor de P
Químico-controle	0.000

Os resultados do teste de médias Tukey comprovam que existem diferenças significativas entre o controle químico e o controle, isso quer dizer que o controle químico causou mortalidade significativa nos ácaros ao contrário do controle que não apresentou mortalidade.

O teste de médias Tukey comprovou que o tratamento químico apresentou diferença significativa em função ao controle tanto em abelhas como em ácaros porque apresentou morte significativa nos dois.

5. DISCUSSÃO

5.1. Método alternativo

Foram testados três extratos de plantas: beterraba, orégano e tomilho para o controle de *V. destructor* em abelhas *A. mellifera* africanizadas. Todos os experimentos realizados anteriormente e descritos na literatura com plantas foram feitos com óleos essenciais. Este é o primeiro estudo realizado com destilações simples de plantas com o intuito de viabilizar seu uso em pequenas comunidades de apicultores ou associações.

Os óleos essenciais são compostos altamente voláteis, em geral monoterpenos, extraídos de plantas, que lhes confere odores característicos. Um dos problemas dos óleos essenciais é a sua toxicidade para as abelhas, existindo uma pequena diferença entre a dose letal para os ácaros e a dose letal para as abelhas. Em comparação, o fluvalinato é 800-1000 vezes mais tóxico para a *V. destructor* do que para as abelhas, enquanto que os óleos essenciais que causam maior mortalidade nos ácaros são apenas 2 a 4 vezes mais tóxicos, isso quer dizer que o efeito dos óleos essenciais pode ser maior na mortalidade de abelhas quando aplicado em altas quantidades (BOGDANOV; IBANEZ; CALDERONE, 1999).

Segundo Damiani et al. (2009), os óleos essenciais possuem várias funções nas plantas, como a defesa contra o ataque de insetos, ácaros e patógenos ao exercer efeito tóxico nesses organismos. Por isso, alguns desses produtos são eficazes no controle do *V. destructor* e podem ser utilizados na redução dessa praga caso utilizados de maneira efetiva, atentando-se para que estes extratos de plantas não prejudiquem às próprias abelhas por tornarem-se substâncias potencialmente nocivas se usadas de modo arbitrário.

Neste trabalho as plantas testadas para o controle do ácaro têm como componente principal o timol no caso do tomilho e o orégano, e ácido oxálico no caso da beterraba. O timol apresenta simultaneamente um elevado efeito acaricida contra *V. destructor* e uma boa tolerabilidade perante as abelhas, destacando-se pela elevada volatilidade que permite ser distribuído ao longo de toda a colmeia para que, em concentrações definidas, leve à morte do ácaro (LINDBERG; MELATHOPOULOS; WINSTON, 2000). Logo, há a necessidade de ter o modo de ação deste composto bem estabelecida, sabendo que estudos realizados em moscas, carrapatos e baratas indicam que o timol em grandes quantidades possivelmente possui atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase (JUKIC et al., 2007).

Fávero (2014) apresenta no seu trabalho a ação repelente do óleo essencial de tomilho sobre operárias de *A. mellifera* africanizadas utilizando aplicações de 5mL. No começo as abelhas não foram atraídas nos primeiros 60 minutos, ou seja, até que o óleo fosse volatilizado

e não mais capaz de inibir a chegada das abelhas. Analisando este dado, as concentrações nas destilações se tornam um fator determinante para o desenvolvimento deste trabalho, agindo no controle de *V. destructor* sem se tornarem tóxicas para as abelhas, observando que as concentrações de timol utilizadas no experimento de Fávero são inferiores as utilizadas neste trabalho.

No caso do ácido oxálico, existem diferentes literaturas que já recomendam dosagens previamente testadas (GREGORC; PLANINC, 2002; GREGORC; POKLUKAR, 2003; STANGHELLINI; RAYBOLD, 2004; MAY-ITZÁ et al., 2007; TOOMEMAA et al., 2010; CASTAGNINO; ORSI, 2012), 3,5% de ácido oxálico, a utilização de maiores volumes de concentração pode matar as abelhas adultas e/ou a criação aberta (sobretudo larvas) (MURILHAS; CASACA, 2005).

Todavia, a obtenção desses óleos essenciais pode ser por meio de diferentes procedimentos. Um deles é a hidrodestilação, que envolve duas substâncias imiscíveis: a água e a mistura de compostos voláteis a ser destilada. É o tipo de destilação utilizada para isolar substâncias que se decompõem nas proximidades de seus pontos de ebulição e que são insolúveis em água ou nos seus vapores de arraste (WATANABE et al., 2006). Este método é muito utilizado para o isolamento de materiais voláteis. Os isolados obtidos são chamados óleos essenciais que, de acordo com a definição internacional, são produtos de destilação (MASTELIC et al., 2008). Além de realizar a hidrodestilação, é necessário usar o aparelho Clevenger e suas variações, considerado um dos equipamentos mais utilizados para as extrações em escala laboratorial, colaborando na separação do óleo essencial da água e os outros compostos (SIMÕES et al., 2004). Porém, seria inviável realizar este tipo de produção, sabendo que a proposta é tornar o processo o mais simples possível para o apicultor. Sendo assim, foram feitas destilações por arraste de vapor, ou seja, o aparelho Clevenger não foi utilizado para separar os compostos da água, e então, as soluções obtidas não eram óleos essenciais, e sim soluções de destilados de plantas. Por fim, este fator não implicou negativamente na pesquisa, pois observando os resultados, as destilações nestas quantidades não podem ser consideradas como tóxicas às abelhas analisando a mortalidade.

Além disso, a temperatura é uma variável de destaque ímpar no desenvolvimento do experimento, pois para manter as abelhas vivas, é necessário manter a temperatura normal da colônia onde elas se encontravam. Pettis e Delaplane (2010) citam que a temperatura da colmeia é de 32-36 °C, sendo 34°C a temperatura mais recomendada, por isso foi importante manter as abelhas na B.O.D. a $34 \pm \text{°C}$.

Outro fator importante durante a aplicação foi a fase de vida do ácaro, já que o tratamento é mais eficiente quando aplicado na fase forética, período o qual as abelhas têm pouca ou nenhuma cria. Esta informação é essencial por comprovar-se que o efeito do produto pode ser limitado quando as crias estão operculadas (RADEMACHER; HARZ, 2006). Assim, o experimento foi realizado após a emergência das abelhas, já que é o momento no qual as abelhas e ácaros tem maior contato com o produto aplicado.

Os óleos essenciais, por serem obtidos através da extração de uma espécie vegetal, são desta forma mais concentrados e apresentam toxicidade mais elevada do que a da planta de origem. É importante ressaltar que o grau da toxicidade dos óleos voláteis é dose-dependente, ou seja, depende da dose administrada e o grau de sensibilidade de cada indivíduo. Ou seja, a toxicidade também depende da via de administração, principalmente se os óleos essenciais não forem diluídos (SIMÕES et al., 2004). Por isso no experimento foi realizado o método de escala de diluições para obter os destilados menos concentrados. Estes procedimentos garantiram que os destilados apresentassem diferença significativa na mortalidade de abelhas, e por isso, foi possível atestar que o destilado de tomilho não teve efeito significativo na mortalidade das abelhas quando comparado ao controle e/ou outros tratamentos, além de não apresentar morte nas abelhas, também teve alto grau na mortalidade dos ácaros, o que quer dizer que a solução de tomilho pode ser usada no controle de *V. destructor*.

5.2. Método biológico

As condições morfofisiológicas dos zangões são importantes para o desenvolvimento do experimento, pois o ácaro tem preferência na seleção entre as diferentes células de cria, como por exemplo: a idade, casta da larva, sexo (DE JONG; MORSE, 1988) e tamanho da célula de cria (MESSAGE; GONÇALVES, 1995). Piccirillo e De Jong (2003) ao compararem células de cria maiores, provenientes de abelhas carnicas (largura interna média de 5,3 mm), constataram que os primeiros foram 38% mais infestados que os favos de abelhas italianas, os quais, por sua vez, foram de 13% mais infestados que os de abelhas africanizadas, que apresentaram favos com média de largura interna de 4,8 mm, construídos naturalmente.

Outro aspecto a se considerar é a preferência de *V. destructor* por células de zangão tanto em abelhas europeias (GROBOV, 1977) como em abelhas africanizadas (ISSA et al., 1999), que são maiores nas europeias. A infestação em zangões criados em células de operárias foi menor do que quando estes se desenvolviam em suas próprias células (maior tamanho), mas zangões criados em células de operárias foram mais infestados do que operárias criadas em células de

zangões, indicando que há um fator inerente à larva de zangão causando essa diferença (ISSA et al., 1993; CALDERONE; KUENEN, 2001).

As infestações também dependem de fatores como a idade do favo, medida pelo número de vezes que é utilizado para a produção de cria, e de acordo com Piccirillo (2001), também se incluem influências químicas e não somente a morfologia da célula. As abelhas diferem em sua habilidade de detectar, atacar e remover este ácaro (CORRÊA; DE JONG, 1998; GUERRA, 2000; CORRÊA et al., 2003), e esta habilidade pode ser influenciada pelo tipo e tamanho do favo de cria (DE JONG; MORSE, 1988; ISSA et al., 1993; PICCIRILLO; DE JONG, 2003).

Sendo assim, quando comparadas as literaturas citadas relacionadas às características físico e morfofisiológicas do zangão e da célula, entende-se melhor a preferência dos ácaros pelas larvas de zangão. Os resultados obtidos do experimento confirmam que *V. destructor* tem mais preferência pelas larvas de zangões do que pelas larvas de operárias, o que significa que o método biológico para o controle do ácaro pode ser utilizado durante a etapa reprodutiva do ácaro, ajudando assim na diminuição da doença.

5.3. Método químico

Flumetrina é um ingrediente ativo pertencente aos piretróides e é distribuído dentro das colmeias para o controle de *V. destructor*. Apesar de ser usado em diferentes países, seu uso não é autorizado no Brasil para esta aplicação. Foi descrito que este método causa uma baixa toxicidade nas abelhas aplicado por contato sob os ácaros (KOENINGER; FUCHS, 1988), sendo apresentado em tiras de polietileno contendo 3,6 mg de princípio ativo. Por isso, a dose recomendada é de quatro tiras por colmeia (para uma colônia de desenvolvimento normal) e duas tiras para colônias jovens (IBACACHE, 2003).

Este acaricida demonstrou ser altamente eficaz no controle do ácaro com registros de mais de 98% de eficiência (MILANI; BARBATTINI, 1988; LLORENTE, 1994; HIGES et al., 1996; BARBATTINI; GREATTI, 1996).

Além de ter estudos realizados que comprovam a eficiência do produto, existem pesquisas que não aprovam o uso pelos problemas gerados nas aplicações em abelhas. Segundo Mamood e Waller (2008) a Flumetrina prejudica as abelhas aumentando o fluxo de sódio, o que pode gerar danos nos processos fisiológicos, nas funções cognitivas, na percepção sensorial, na integração neuronal e pode provocar perda da memória.

Cabe mencionar que no experimento houve morte em todos os ácaros, mas também em todas as abelhas, e de acordo com Ibacache (2003) a dose recomendada para uma colmeia é de 14,4 mg, o que proporcionalmente resulta na aplicação de 0,009 mg pelo número de indivíduos utilizados ser menor do que em uma colmeia. Porém, foi aplicado 0,008mg do composto químico, ou seja, menor que a proporção recomendada, mas ainda assim com níveis altos de mortalidade e sintomas como diarreia nas primeiras 6 horas, o que prova que outras dosagens previstas em literatura não foram usuais neste experimento.

6. CONCLUSÃO

A proposta deste trabalho foi comparar a eficiência de três métodos: alternativo, biológico e químico, no controle do ácaro *V. destructor* em *A. mellifera*:

De acordo com os resultados encontrados nos experimentos realizados, podemos considerar que:

a) Os destilados de plantas de tomilho, orégano e beterraba não são inertes às abelhas e, em certas concentrações, podem matá-las assim como as substâncias químicas sintéticas utilizadas em alguns países.

b) As quatro dosagens de tomilho não apresentaram mortalidade significativa em função ao controle e aos outros destilados, além que matou todos os ácaros em menor tempo, mas as concentrações três e quatro foram as que não causaram mortalidade, concluindo ser estas concentrações as mais indicadas para o controle de *V. destructor*.

c) *V. destructor* apresentou maior preferência pelas larvas de zangão do que pelas larvas de operárias, podendo ser utilizado como método de controle eficiente durante a etapa reprodutiva do ácaro.

d) Demonstrou-se que o ingrediente ativo de flumetrina, nas quantidades descritas, não pode ser utilizado no controle de *V. destructor*, já que apresentou um alto grau de mortalidade nas abelhas *Apis mellifera* africanizada.

7. REFERÊNCIAS

ABEMEL. Associação Brasileira dos Exportadores de Mel. Cuba G. **Setor apícola brasileiro em números**. Inteligência comercial. Brasil, 2016.

AIZEN, M. A.; HARDER, L. D. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. **Current Biology**, London, v. 19, p.915-918, 2009.

ALVES, S.B. et al. *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904, (Acari, Mesostigmata, Varroidae) also in Brazil. **Ecosistema**, Brasil, v. 3, p.78-79, 1979.

ALIA, O.; LAILA, M.; ANTONIOUS, A. Antimicrobial effect of melittin isolated from Syrian honeybee (*Apis mellifera*) venom and its wound healing potential. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review And Research**, United States, v. 21, p.318-324, 2013.

ANDERSON, D.L.; TRUEMAN, J.W.H. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. **Experimental And Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, p.165-189, 2000.

AUBERT, M. et al. **Virology and the Honey Bee**. Luxembourg: European Communities, 2007. Disponível em:
<http://ec.europa.eu/research/agriculture/pdf/virology_and_the_honey_bee.pdf> Acesso em: 4 fev. 2009.

BACCI, M. Síndrome do despoblamento de colmeias. Programa de controle de doenças de as abelhas. **SENASA**, Argentina, 2007, p 3.

BADUI, D. S. **Química dos alimentos**. 4. ed. México, Pearson Educación, 2006. 715 p.

BAGGIO, A. et al. Field trials with different thymol-based products for the control of varroosis. **American Bee Journal**, United States, v.144, p.395-400, 2004.

BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, S. Y.; KADOTA. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research**. Italy, v.15, p.561-71, 2001.

BARBATTINI, R.; GREATTI. M. Métodos de lucha contra la Varroa en Italia nororiental. **Vida Apícola**, Barcelona, v.75, p.50-55, 1996.

BOGDANOV, S.; IBAÑEZ. O.R.; CALDERONE W. N. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. **Apidologie**, France, v. 30, p.209-228, 1999.

BOOT, J. et al. Further observations on the correlation between attractiveness of the honeybee brood cells to *Varroa jacobsoni* and the distance from larva to cell. **Entomologic Experimental Applicata**, United Kingdom, v. 76, p.223-232, 1995.

BRADBEAR, N. **La apicultura y los médios de vida sustentables**: Folleto de la FAO sobre diversificación. Roma: Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación, 2005. 17 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 11 de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel. Disponible em URL: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in_11_2000.htm.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. **International Journal of Food Microbiology**, Europa, v. 94, n.3, p. 223- 253. 2004.

CALDERONE, N. W. Evaluation of formic acid and a thymol-based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 92, n.2, p. 253-260, 1999.

CALDERONE, N.W.; KUENEN, L.P.S. Effects of western honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony, cell type, and larval sex on host acquisition by female *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v.94, p.1022-1030, 2001.

CARNEIRO, F.E. et al. Changes in the reproductive ability of the mite *Varroa destructor* (Anderson e Trueman) in Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) Hymenoptera: Apidae) colonies in Southern Brazil. **Neotropical Entomology**, Brasil, v.36, p.949-952, 2007.

CARON. **Manual práctico de apicultura**. Argentina: Honey Bee Biology And Beekeeping, 2010. 34 p.

CASANUEVA, M. Acarofauna asociada con *Apis mellifera* L. primeros registros para Chile de *Varroa jacobsoni* Oudemans y *Melittiphis alvearius* (Berlese) (Acari, Mesostigmata). **Boletín de la Sociedad Biológica de Concepción (Chile)**, Chile, v.63, p.51-53, 1992.

CASTAGNINO, G. L. B.; ORSI, R. O. Produtos naturais no controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas. **Pesquisa agropecuária Brasil.**, Brasília, v.47, n.6, p.738-744, 2012.

CHEN, Y. P., et al. Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, United States, v.56, p.142-147, 2009.

CORRÊA, M. M. H.; DE JONG, D. Uncapping of worker bee brood, a component of the hygienic behavior of Africanized honey bees against the mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. **Apidologie**, France v.29, p.283-289, 1998.

CORRÊA, M. M. H. et al. Comparing data on the reproduction of *Varroa destructor*. **Genetics and Molecular Research**, Brasil, v.2, p.1-6, 2003.

CORONADO, A., BARRIOS, C.; MUJICA, F. *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904 (Acari:Varroidae) en apiarios del centroccidente venezolano. **Revista Científica**, Venezuela, v.3, p.161-163, 1997.

DAMIANI, N. et al. Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Parasitology Research**, Berlin, v.106, p.145-152, 2009.

DE JONG, D.; GONÇALVES, L.S.; MORSE, R.A. Dependence of climate on the virulence of *Varroa jacobsoni*. **Bee World**, Colorado, v.65, p.117-121, 1984.

DE JONG, D.; MORSE, R.A. Utilization of raised brood cells of the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), by the mite *Varroa jacobsoni* (Acarina: Varroidae). **Entomologia Generalis**, Brasil, v.14, p.103-6, 1988.

EMBRAPA. Produção de mel, 2003. Disponível em:
<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/historico.htm>.
Acesso em: 28 fev 2015.

ENGELSDORP, D.V. et al. A survey of honeybee colony losses in the U.S., Fall 2007 to Spring 2008. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 3, n. 12, p. 40-71, 2008.

ENGELSDORP, D. V.; MEIXNER, M. D. A historical review of managed honeybee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 103, p. 580-595, 2010.

FARREL, T. K. Spices, condiments, and seasonings. 3^a ed., New York: **Van nostrand reinhold** - AVI book. 1995. p. 414.

FÁVERO, R. **Estudo de repelência com diversos produtos de origem natural em operárias de *Apis mellifera* em semi-campo**. 2014. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2014.

FREDES, F. Varroose: um novo problema parasita no Chile. **Monografias de Medicina Veterinaria**, Chile, v. 15, p. 11-16, 1993.

FREITAS, B. M. et al. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. **Apidologie**, France, v. 40, p. 332-346, 2009.

GAMBER, W.R. Fluvalinate scare should serve as warning. **American Bee Journal**, Hamilton, v. 130, p. 629, 1990.

GARRIDO, C. et al. Temporal changes in *Varroa destructor* fertility and haplotype in Brazil. **Apidologie**, France, v. 53, p. 535-541, 2003.

GREGORC, A.; PLANINC, I. The control of *Varroa destructor* using oxalic acid. **The Veterinary Journal**, Canada, v.163, p.306-310, 2002.

GREGORC, A.; POKLUKAR, J. Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal treatments for *Varroa destructor* in honeybee colonies. **Veterinary Parasitology**, Brasil, v.111, p.351-360, 2003.

GROBOV, O.F. Varroasis in bee, In: Varroasis: a honeybee disease. **Apimondia**, Bucharest, p. 48-90, 1977.

GRÜNEWALD, B.; WERSING, A. Fisiología celular de las neuronas de procesamiento de olores en el cerebro de la abeja. **Acta Biologica Hungarica**, Hungria, v.55, p.53-63, 2004.

GUERRA, J.C. **Comportamento de remoção de crias de operárias africanizadas (*Apis mellifera*) infestadas com o ácaro *Varroa jacobsoni* e alguns aspectos envolvidos no parasitismo**. Tese de Doutorado em Genética. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP. 2000.

GUZMAN, N. E. et al. Beekeeping in various parts of the world. In: SHIMANUKI, H; FLOTTUM, K; HARMAN, A. (Ed.). **The ABC e XYZ of Bee Culture**. Medina, OH: AI Root Co, 2007, p. 83-99.

HIGES, M. A síndrome do despoblamento das colmeias na Espanha. **Vida Apícola**, Espanha, p.15-21. 2005.

HIGES, M.; SUÁREZ, M.; LLORENTE, J. Eficacia del flumetrín en el control de *Varroa jacobsoni*. **Vida Apícola**. España, v.75, p.39- 43, 1996.

HIGES, M. Teste de campo da eficiencia do Apivar y la rotenone no controle da Varroses da abelha de mel. **Apiacta**, Italia, v.34, p.33-38, 1999.

IBACACHE, A. **Evaluación de cuatro tratamientos alternativos en el control de *Varroa destructor* Anderson y Trueman en *Apis mellifera* L. en la zona de Valparaíso**. 2003. 65 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, 2004.

IFANTIDIS, M.D. Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. **Apidologie**, Paris, v.19, p.387-96, 1988.

ISLA, M.I.; MORENO, M.I.N.; SAMPIETRO, A.R. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, Leiden, v.76, n.2, p.165-170. 2001.

ISSA, M.R.C. et al. Variação morfométrica nas abelhas *Apis mellifera* de apiaries comerciais localizados ente os paralelos 30° e 35° Sul. **Genetics and Molecular Biology**, Brasil, v.22, p.190, 1999.

ISSA, M.R.C; DE JONG, D.; GONÇALVES, L.S. Reproductive strategies of the mite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata, Varroidae): Influence of larva type and comb cell size on honey bee brood infestation rates. **Brazilian Journal of Genetics**, Brasil, v.16, p.219-224, 1993.

IMDORF, A. et al. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. **Apidologie**. France, v.30, p.209-228, 1999.

JUKIC, M. et al. In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. **Phytotherapy Research**. United States, v.21, p.259-261, 2007.

KOENINGER, N.; FUCHS, S. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honeybee colonies containing sealed brood cells. **Apidologie**, France, v.19, p.117-130, 1988.

LASTRA, M. J. J. **Los beneficios del colmenar**. Las abejas y la apicultura. Universidad de Oviedo, España. Julio 2004.

LINDBERG, C. M.; MELATHOPOULOS, A. P.; WINSTON, M. L. Laboratory evaluation of miticides to control *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidae) parasite. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis v.93, p.189-198, 2000.

LLORENTE, J. Tratamiento químico contra la *Varroa jacobsoni*. Perspectivas futuras en el control de la varroasis. En: XIII Feria Apícola. Pastrana, España. 1994.

LODESANI, M. et al. Residue determination for some products used against Varroa infestation in bees. **Apidologie**, France, v.23, p.257-272, 1995.

MAMOOD, A. N.; WALLER, G. D. Recuperación de aprender respuesta de abejas después de una exposición subletal a la permetrina. **Fisiológico Entomología**, Brasil, v.15, p.55-60, 2008.

MARCANGELLI, A. Control de *Varroa destructor* en colmenas de la abeja *Apis mellifera* con cría dirigida a zánganos. **Vida apícola**, España, v.117, 28-31, 2003.

MARCOS F, J. **Fisiología de semillas de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005, p.495.

MASTELIC, J. et al. Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, United States, v.56, p.3989-3996, 2008.

MATOS, I. A. F. et al. **Avaliação da composição centesimal de folhas de beterraba comparadas com espinafre**. II Seminário Iniciação Científica- IFTM, Uberaba, MG, 2009.

MAY-ITZÁ, W. de J.; MEDINA M. L. A.; OLIVARES, J.C.M. Eficacia de un gel a base de timol en el control del ácaro *Varroa destructor* que infesta colonias de abejas *Apis mellifera*, bajo condiciones tropicales en Yucatán, México. **Veterinaria México**, México, v.38, p.1-8, 2007.

MEDINA ML, MAY IW. **Doenças das abejas**. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, México, 2005, 88 p.

MEDINA, L.M.; MARTIN, S.J. A comparative study of *Varroa jacobsoni* reproduction on workers cells of honey bees (*Apis mellifera*) in England and Africanized bees in Yucatán, México. **Experimental and Applied Acarology**, Netherlands, v.23, p.659-667. 1999.

MESSAGE, D.; GONÇALVES, L.S. Effect of the size of worker brood cells of africanized honey bees on infestation and reproduction of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. **Apidologie**, France, v.26, p.381-86, 1995.

MILANI, N.; BARBANTTINI, R. Effectiveness of Apistan (fluvalinate) in the control of *Varroa jacobsoni* Oudemans and its tolerance by *Apis mellifera* Linnaeus. **Apidologie**, France, v.4, p.39-58, 1988.

MILANI, N. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to pyrethroids: a laboratory assay. **Apidologie**, France, v.26, p.415-429, 1995.

MONTIEL, E. J. C.; PIOLA, G. A. A new enemy of bees. In: V. Harnaj (ed.), Varroasis a honey bee disease. **Apimondia Publishing House**, Bucharest, 1976. p. 36-38.

MORENO, E. A. **Manual de controle de doenças apícolas**. Diagnóstico e Tratamento. Red Nacional Apícola. 2010. 156 p.

MORETTO, G. et al. Africanized honey bees are more efficient at removing *Varroa jacobsoni* preliminary data. **American Bee Journal**, United States, v.28, p.434, 1991.

MURILHAS, A.; CASACA J. **Ácido oxálico**. Guia de utilização do ácido oxálico na luta contra a varroa. Ministerio da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. 2005. 18 p.

MURILHAS, A. *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera* carnica capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. **Apidologie**, France, v.33, p.271-281. 2002.

MUTINELLI, F.; BAGGIO, A.; CAPOLONGO, F.; PIRO, R.; BIASION, L. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. **Apidologie**. France, v.28, p.461-462. 1997.

NATIONAL AGRICULTURAL STATISTICS SERVICE. Honey. Disponível em: <www.nass.usda.gov>. 2008. Acesso em: 04 março de 2016.

OLDROYD, B. P. What's Killing American Honey Bees?. **PLoS Biology**, Cambridge, v. 5, n. 6, p. e168, 2007.

PAMPLONA, L.C.; AZEDO, R.A.B.; OLIVEIRA, K.C.L.S. Physicochemical analyses indicated to the quality control of royal jelly with honey. **Food Science and Technology**, Brasil, v.24, p.608-612, 2004.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Honeybee Science Research Center**, Japan, v.21, n.2, p.85-90, 2000.

PENG, Y. S.; FANG, Y.; XU, S; GE, L. The resistance mechanism of the Asia honeybee *Apis cerana* Fabr. to an ectoparasite mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.19, p.54-60, 1987.

PETTIS, J.; DELAPLANE, K. Coordinated responses to honey bee decline in the USA. **Apidologie**, France, p.1-8. 2010.

PICCIRILLO, G.A. **Efeito do tamanho da célula do favo de cria sobre a variabilidade morfológica das abelhas Africanizadas (*Apis mellifera*) e sobre a infestação e reprodução do ácaro *Varroa jacobsoni***. Dissertação de Mestrado em Entomologia, FFCLRP - USP. 2001.

PICCIRILLO, G.A.; DE JONG, D. The influence of brood comb cell size on the reproductive behavior of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* in Africanized honeybee colonies. **Genetics and Molecular Research**, Brasil, v.2, p.36-42, 2003.

POTTS, S. G. et al. Global Pollinator declines: trends, impacts and drives. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 25, p. 345-353, 2010.

PRAKASH, V. **Leafy spices**. 2: ed, Florida : Boca Raton, 1995. 114 p.

PRINCIPAL, J.; SANTOS, V.; F. LAGUNA. **Varroasis en Venezuela**. Memorias del XII Congreso Venezolano de Entomología, Mérida. 1991. 22 p.

RADEMACHER, E.; HARZ, M. Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies a review. **Apidologie**, France, v.37, p.98-120, 2006.

RITTER, W. **Enfermedades de las abejas**. Acribia, Zaragoza, España. 2001. 146 p.

RODRIGUEZ, M.; GERDING, M. Control biológico de Varroa. **Tierra adentro**, México, v.65, p.20, 2005.

ROSENKRANZ, P.; AUMEIER, P.; ZIEGELMANN, B. Biology and control of *Varroa destructor*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.103, p.96-119, 2010.

SAMMATARO, D.; GERSON, U.; NEEDHAM, G. Parasitic mites of honey bees: life history, implications and impact. **Annual Reviews of Entomology**, California, v.45, p.519-548, 2000.

SANTOS, A. S. **A vida de uma abelha solitária**. Disponível em: <http://www.abelhas.noradar.com/artigos.htm>. Jan 2002. Acesso: 30 de novembro de 2015.

SILVEIRA S. F. **Revisão das doenças que podem acometer *Apis mellifera***. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Porto Alegre. 2010. 116 p.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ED. Porto Alegre, Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004.

STANGHELLINI, M.S.; RAYBOLD, P. Evaluation of selected biopesticides for the late fall control of varroa mites in a northern temperate climate. **Scientific Evidence**, Washington, v.144, p. 1-12, 2004.

THOMPSON, H.M. et al. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. **Apidologie**, France, v.33, p.357-366, 2002.

TOOMEMAA, K.; MARTIN, A. J.; WILLIAMS, I.H. The effect of different concentrations of oxalic acid in aqueous and sucrose solution on *Varroa* mites and honey bees. **Apidologie**, France, v.41, p.643-653, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Introducción a la Microbiología**. Madrid, España. p. 178. 2007.

TRADEMAP. International Trade Center (ITC). Disponível em:
<http://www.trademap.org/stGlossary.aspx>. Acesso em: 11 de março de 2016.

VERDE, J. M. Varroses. Medidas de luta e controle. uso de colmeias. Memorias del XV Seminario Americano de Apicultura. Tepic, Nayarit, México. 16-18 de agosto. **Unión Nacional de Apicultores**. 2001.

VERDE, M.; CHAN, S. Estrategia de lucha integrada para el control de varroa: Resultados y experiencia cubana. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**, v.6, p.10, 2005.

WALLNER, K. The use of Varroacides and their influence on the quality of bee. **Apidologie**. France, v.30, p.235-248, 1995.

WALLNER K. Varroacides and their residues in bee products. **Apidologie**. France, v.30, p.235-248, 1999.

WATANABE, C.H. et al. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arrate a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Brasil, v.8, p.76-86, 2006.

ZLOTKIN, E. El canal de sodio dependiente de voltaje insectos como objetivo de insecticidas. **Revisión Anual de Entomología**, Colombia, v.44, p.429-455, 1999.