



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
CURSO DE GRADUAÇÃO DE AGRONOMIA**

IZABELLA MOREIRA DA CRUZ PINHEIRO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTÂNCIA TIMOL SOBRE AS ABELHAS
Apis mellifera E *Scaptotrigona postica*

Gurupi, TO

2021

IZABELLA MOREIRA DA CRUZ PINHEIRO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTÂNCIA TIMOL SOBRE AS ABELHAS

Apis mellifera E *Scaptotrigona postica*

Artigo avaliado e apresentado à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi, Curso de Agronomia para obtenção do título de Bacharel em Agronomia e aprovado em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Dr.^a Marcela Cristina Agustini Carneiro da Silveira Tschoeke

Coorientador: Dr. Paulo Henrique Tschoeke

Gurupi, TO

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

P654a Pinheiro, Izabella Moreira da Cruz.
Avaliação do efeito da substância timol sobre as abelhas *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica*. / Izabella Moreira da Cruz Pinheiro. – Gurupi, TO, 2021.
33 f.

Artigo de Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Gurupi - Curso de Agronomia, 2021.

Orientador: Marcela Cristina Agustini Carneiro da Silveira Tschoeke
Coorientador: Paulo Henrique Tschoeke

1. Polinizadores . 2. Repelência . 3. Mortalidade. 4. Timol. I. Título

CDD 630

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

IZABELLA MOREIRA DA CRUZ PINHEIRO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTÂNCIA TIMOL SOBRE AS ABELHAS *Apis mellifera* E *Scaptotrigona postica*

Artigo avaliado e apresentado à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi, Curso de Agronomia para obtenção do título de Bacharel em Agronomia e aprovado em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 14/12/2021

Banca Examinadora:



Marcela Cristina Agustini Carneiro da Silveira
025308707 Brnff Marraia C A C Silveira

Prof. Dr.^a Marcela Cristina Agustini Carneiro da Silveira Tschoeke, UFT



Prof. Dr. Paulo Henrique Tschoeke, UFT



Ma. Laina Pires Rosa, Bionorte

*Dedico este trabalho a Deus e a cada um que
caminhou comigo até aqui.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho.

A minha família por me amparar sempre que foi preciso, por todo o apoio e pela ajuda, que muito contribuiu para a realização deste curso.

A meus orientadores Dr.^a Marcela Cristina Agustini Carneiro da Silveira Tschoeke e ao professor Dr. Paulo Henrique Tschoeke, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Aos meus colegas e amigos, com quem convivi intensamente durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formanda, em especial Luis Flávio Nogueira de Souza e Joao Henrique Silva da Luz.

RESUMO

O uso de produtos à base de extratos vegetais está tendo uma importância cada vez maior devido às suas propriedades ecotoxicológicas. No entanto, também podem interferir negativamente a outros organismos benéficos. Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do timol sobre as abelhas *Apis mellifera* L. e *Scaptotrigona postica*. No laboratório foram anestesiadas com CO₂ e depois, colocadas em potes de plástico 500 mL com perfurações. No total foram realizadas 14 repetições. Foram testadas quatro concentrações de timol (10, 14, 18 e 23 mg), em solução de xarope de açúcar (50%) e controle para o teste de mortalidade. Para repelência foi realizada a exposição com chance de escolha em gaiolas das mesmas concentrações. Após 5 horas de exposição oral aos tratamentos contendo o timol e xarope, foi realizada a avaliação de mortalidade e fornecido às abelhas apenas xarope de água com açúcar, após 24 h do início do experimento avaliou-se a mortalidade. Nos testes de repelência foram realizadas avaliações a cada 5 minutos até o total de 120 min. O timol não apresentou efeito letal sobre as abelhas *A. mellifera* porém demonstrou efeito sub-letal avaliado no decorrer de 24 horas. Nas concentrações testadas neste trabalho o timol apresentou os efeitos subletais, repelente e anti-alimentação em abelhas *A. Mellifera*. Nas abelhas *S. postica* o timol demonstrou efeito letal, anti-alimentação, repelente, sendo que para as concentrações utilizadas a abelha sem ferrão demonstrou ser mais sensível aos efeitos do Timol comparada a *A. mellifera*.

Palavras-chave: Polinizadores. Repelência. Mortalidade. Timol.

ABSTRACT

The use of products based on plant extracts is becoming increasingly important due to their ecotoxicological properties. However, they can also interfere negatively with other beneficial organisms. This work aims to evaluate the effect of thymol on the bees *Apis mellifera* L. and *Scaptotrigona postica*. In the laboratory, they were anesthetized with CO₂ and then placed in 500 mL plastic pots with perforations. In total, 14 repetitions were performed. Four concentrations of thymol (10, 14, 18 and 23 mg) were tested in sugar syrup solution (50%) and control for the mortality test. For repellency, free-choice exposure was performed in cages of the same concentrations. After 5 hours of oral exposure to treatments containing thymol and syrup, mortality was evaluated and the bees were provided with only sugar water syrup, 24 h after the beginning of the experiment, mortality was evaluated. In the repellency tests, evaluations were carried out every 5 minutes until a total of 120 min. Thymol had no lethal effect on *A. mellifera* bees, but showed a sub-lethal effect evaluated over 24 hours. At the concentrations tested in this work, thymol showed sublethal, repellent and anti-feeding effects on *A. Mellifera* bees. In *S. postica* bees, thymol showed a lethal, anti-feeding, repellent effect, and for the concentrations used, the stingless bee showed to be more sensitive to the effects of Thymol compared to *A. mellifera*.

Keywords: Pollinators. Repellency. Mortality. Thymol.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVO	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3	METODOLOGIA.....	12
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
	REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

A intensificação agrícola levou a uma redução nas áreas seminaturais e na abundância de plantas com flores silvestres, reduzindo a disponibilidade de recursos florais dos quais os insetos polinizadores dependem. A perda de biodiversidade diminui substancialmente vários serviços do ecossistema, alterando o funcionamento e a estabilidade do ecossistema, especialmente nas grandes escalas temporais e espaciais que são mais relevantes para políticas de conservação (ISBELL et al., 2017). A polinização é um dos serviços fundamentais do ecossistema. Sendo as abelhas, principalmente a *Apis mellifera* umas das mais importantes para esse trabalho (KLEIN et al., 2007; OLLERTON, 2017). Estima-se que as abelhas representem 80% de toda a polinização de plantas nativas e de plantas cultivadas e são responsáveis por assegurar aproximadamente um terço do fornecimento de alimentos (MAHMOOD et al., 2011).

Porém para o controle de pragas agrícolas e vetores de doenças para animais e humanos tem sido usado principalmente substâncias químicas sintéticas industrializadas o que acarreta problemas para esses organismos considerados benéficos. Calatayud- Vernich et al. (2019) relataram o envenenamento por inseticida nas abelhas que ocorreu em apiários localizados próximos as instalações agrícolas, sendo os clorpirifós, dimetoato e imidacloprid relacionados a altas taxas de mortalidade desses indivíduos, sendo considerados de risco elevado para as abelhas. Sendo assim os produtos naturais se tornam alternativas eficazes e adequadas aos inseticidas sintéticos, e podem ser considerados uma alternativa promissora (PAVELA, 2016). Além disso, há um crescente interesse no uso desses produtos para produção de orgânicos, livres de agrotóxicos e adoção de métodos agrícolas mais sustentáveis (LAMICHHANE et al., 2016).

Nexte contexto, destaca-se os óleos essenciais vegetais (OE) que são misturas complexas, de compostos voláteis e lipofílicos produzidos por várias espécies aromáticas (MIRESMAILLI E ISMAN, 2014). Dentre os muitos compostos estudados está o gênero *Lippia*, o segundo maior gênero da família Verbenaceae e inclui muitas espécies medicinais e aromáticas, como a *L. sidoides*, nome popular "alecrim-pimenta".

O óleo essencial *L. sidoides*, é uma planta medicinal típica da região semi-árida do Bioma Caatinga, tem como compostos majoritários o timol e carvacrol, substâncias que agregam importância à planta pela comprovação científica farmacológica (MELO et al., 2011; VERAS et al., 2014), com propriedades anti-infecciosa, antisséptica, anti-inflamatória (BOTELHO et al., 2016), inseticida (FIGUEIREDO et al., 2017), acaricida (CAMILO et al., 2017; GASHOUT E GUZMAN- NOVOA, 2009; GUZMAN- NOVOA, 2016) e fungicida (BALDIN et al., 2019).

Além disso, o timol também apresenta atividades antimicrobiana, antioxidante, anticarcinogênica anti-inflamatória e antiespasmódica, além de potencial potenciador do crescimento e imunomodulador (SALEHI et al., 2018).

Neste sentido a utilização de compostos secundários é mais amplamente utilizada que os óleos pois a padronização e controle de qualidade é mais eficiente (ISMAN, 1997), como também para sua aceitação e garantia de segurança (BARTLETT, 2022), os óleos podem sofrer alterações dos compostos majoritários, seja por fatores genéticos, técnicos (coleta, estabilização e armazenamento), bióticos ou abióticos, influenciando diretamente na qualidade e, conseqüentemente, nos resultados de tratamentos e testes biológicos sobre patógenos humanos ou fitopatógenos (MORAIS, 2009).

O óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) (Verbenacea) é composto de 60% a 80% timol ou uma mistura de timol e cavacrol (SILVA et al., 2009; FERREIRA et al., 2018). O timol é um monoterpeneoide que tem ação antibacterianos, antioxidantes, moluscicidas, inseticida, além de inibir a alimentação em insetos (WALIWITIYA et al., 2010; HUMMELBRUNNER E ISMAN, 2001), penetra facilmente na cutícula e interfere no músculo de vôo e na função nervosa central da mosca *Phaenicia sericata* (WALIWITIYA et al., 2010) e é capaz de inibir a reprodução de adultos de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (BOVORNNANTHADEJ et al., 2014).

Nas abelhas *A. mellifera* a exposição oral ao timol não foi considerada um risco durante o desenvolvimento larval das abelhas (CHARPENTIER et al., 2014), sendo um tratamento alternativo, eficaz e fácil para o ácaro *Varroa destructor* pois não se observou dano no desenvolvimento da colônia (EMSEN et al., 2015; SABAHI et al., 2020; GASHOUT et al., 2020). No entanto quando se trata de inseticidas, apesar de sua origem botânica, é necessário para a inserção definitiva e segura de produtos botânicos no mercado estudos sobre mecanismos de ação e impacto sobre organismos não alvo que contribuem positivamente para o sistema (CORRÊA E SALGADO, 2011).

Estudos sobre esses impactos são importantes para averiguar como os inseticidas botânicos agem sobre organismos não- alvo. Pesquisas demonstraram que os inseticidas botânicos podem apresentar efeitos tóxicos sobre os organismos benéficos assim como atuam sobre as pragas (TSCHOEKE et al., 2019; PINHEIRO et al., 2019; POTRICH et al., 2020).

Testes de toxicidade e repelência dos inseticidas botânicos são de extrema importância para direcionar o controle de seu uso, aliando assim a preservação ambiental. Portanto a presente pesquisa teve por objetivo verificar se a dose usada como inseticida para controle de

larvas de *A. aegypti* pode também ter ação inseticida e repelente em abelhas *A. mellifera* e *S. postica*.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do timol sobre as abelhas operárias adultas das espécies *A. mellifera* e *S. postica*.

2.2 Objetivos específicos

Verificar a mortalidade, *in vitro*, de abelhas operárias adultas de *A. mellifera* e *S. postica* expostas à substância timol.

Verificar a repelência, *in vitro*, de abelhas operárias adultas de *A. mellifera* e *S. postica* expostas à substância timol.

3 METODOLOGIA

3.1 Local de estudo e o timol

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Zoologia, na Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Gurupi, Estado do Tocantins entre os anos de 2018 e 2020.

O timol puro (Êxodo científica) foi adquirido de empresa comercial e posteriormente enviado ao laboratório de Zoologia para os testes com abelhas.

3.2 Coleta das abelhas *Apis mellifera*

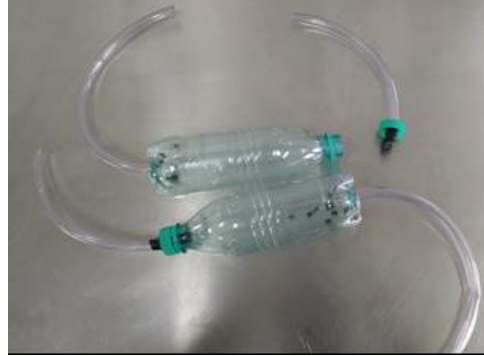
As abelhas *A. mellifera* foram obtidas de colônias instaladas no apiário instalado no Campus de Gurupi, na Universidade Federal do Tocantins. Foram capturadas cerca de 150 abelhas por coleta. O alvado foi bloqueado com esponja de espuma para impedir a saída dos insetos. Na sequência o gargalo de uma garrafa plástica transparente (PET) de 500 ml foi introduzido num orifício da esponja permitindo a saída das abelhas para o interior da garrafa. Para viabilizar a manipulação dos insetos no laboratório, foram capturadas cerca de 50 abelhas por garrafa. Ao atingir a quantidade desejada de abelhas a garrafa era retirada e fechada com uma tampa perfurada para garantir as trocas gasosas. Imediatamente após a coleta, as abelhas foram encaminhadas ao Laboratório de Zoologia. Foi utilizada fumaça, oriunda da queima de sabugos secos de milho em fumigador apícola, na quantidade necessária para uma coleta segura.

3.3 Coleta das abelhas *S. postica*

As abelhas *S. postica* foram obtidas das colmeias do meliponário instalada na residência situada na Rua senador Pedro Ludovico nº 1608 em Gurupi - TO. Foram capturadas cerca de 120 abelhas por coleta. Utilizou-se um dispositivo de sucção (Figura 1) composto por uma garrafa pet de 600 ml, conectado em suas extremidades por duas mangueiras de silicone transparente com diâmetro interno de 10mm e espessura de parede de 1 mm e comprimento de 250 mm cada mangueira. Na mangueira utilizada para sucção, em uma das pontas foi colocado um pedaço de tela plástica fixada com fita adesiva. No momento da coleta, a ponta da mangueira foi colocada na entrada da colmeia, onde as abelhas foram sugadas para o interior da garrafa. Para viabilizar a manipulação dos insetos no laboratório, foram capturadas cerca de 50 abelhas por dispositivo. Ao atingir a quantidade desejada de abelhas a mangueira foi retirada, dobrada

e presa com auxílio de uma fita adesiva. Imediatamente após a coleta, as abelhas foram encaminhadas ao Laboratório de Zoologia da UFT Gurupi, que está localizado a três quilômetros do local de coleta.

Figura 1. Dispositivo utilizado para coleta das abelhas *Scaptotrigona postica*.



Fonte: Souza, Luiz Flavio Nogueira de (2020)

3.4 Manipulação e preparo das abelhas

Nas dependências do Laboratório de Zoologia as abelhas contidas nas garrafas plásticas foram anestesiadas com CO₂ por oito segundos, sendo então separadas em grupos de 20 indivíduos e cada grupo colocado no interior de potes plásticos transparentes distintos com capacidade de 500 ml cada pote. As tampas dos potes foram perfuradas para facilitar as trocas gasosas. Cada pote plástico continha na lateral próximo ao fundo, um furo com diâmetro de cerca de 10 mm, previamente fechado com fita adesiva. Na sequência as abelhas foram submetidas a 60 minutos de jejum em BOD (TECNAL-TE4012) (T = 32±1°C, UR = 65% e ausência de luz) para *S. postica* e (T = 34±1°C, UR = 65% e ausência de luz) para *A. mellifera*.

3.5 Teste de mortalidade

Os tratamentos testados foram de quatro concentrações (10, 14, 18, 23 miligramas) de timol puro (fabricante êxodo científica) sendo oito repetições para cada tratamento com 20 abelhas cada, com timol misturado em xarope de sacarose (50% v/v) com emulsificante Tween 80 (20 µL), além de um tratamento contendo xarope de sacarose (50% v/v) com emulsificante Tween 80 (20 µL) e um tratamento controle composto apenas de xarope de sacarose (50% v/v).

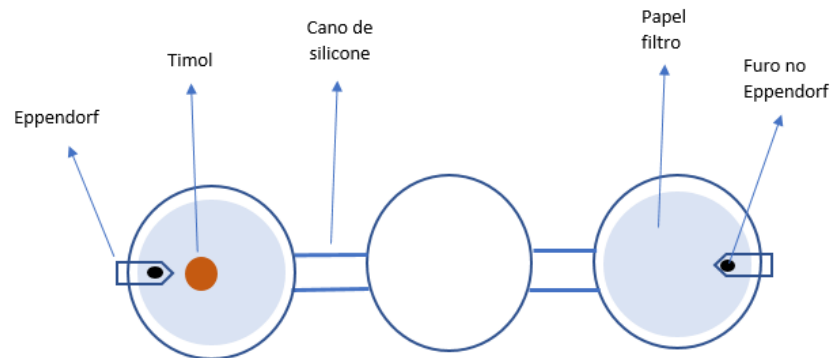
Um volume de 2 ml de cada tratamento foi colocado no interior de tubos Eppendorf com a base previamente perfurada. Cada tubo foi agitado por 3 minutos em agitador vortex de bancada (Phoenix-AP56) e pesados em balança analítica (Shimadzu-AUY220). Após 60

minutos do início do jejum, cada tubo eppendorf foi introduzido no orifício lateral de um pote contendo um grupo de 20 abelhas operárias adultas e levados para BOD novamente. Após 5 horas de exposição foram registrados mortalidade e consumo *ad libitum*. O inseto foi considerado morto quando não realizar nenhum movimento. O consumo de alimento por abelha foi obtido pela diferença do peso inicial e peso final do eppendorf contendo o tratamento dividido pelo número de abelhas por tratamento após o período de observação. Após a avaliação de mortalidade às cinco horas após o início do experimento, os eppendorfs foram retirados e adicionados novos eppendorf previamente preparados apenas com alimento *ad libitum*, xarope de sacarose (50% v/v), durante 19 horas. Após esse período foi registrada a mortalidade e o consumo de alimento das 5 e 24 horas.

3.6 Teste de repelência

Os bioensaios de repelência com chance de escolha foram realizados com quatro concentrações de timol puro (fabricante êxodo científica) (10, 14, 18, 23 miligramas) e para cada tratamento foram realizadas 5 repetições, em cada repetição foi alternado o lado em que as doses foram depositadas. Foi utilizado um dispositivo (Figura 2) composto por três potes plásticos transparentes com capacidade de 500 ml cada, interligados por tubo plástico transparente com diâmetro interno de 10mm e espessura de parede de 2 mm. Cada tubo possui 100mm de comprimento. Na porção média de cada tubo, com o auxílio de um bisturi, foi feito um corte no sentido radial com cerca de metade do diâmetro interno e introduzida neste corte uma lâmina de plástico rígido para impedir a passagem das abelhas do pote central para os potes laterais antes do início dos ensaios. As tampas de cada pote foram perfuradas para facilitar as trocas gasosas. Grupos de 20 abelhas previamente anestesiadas com CO₂ por 8 segundos, acondicionados no pote central do dispositivo e submetidas ao jejum de 60 minutos na BOD (T = 35±1°C, UR = 65% e ausência de luz).

Figura 2. Representação gráfica (vista superior) do dispositivo utilizado no teste de repelência. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Após o jejum, foi fornecida alimentação *ad libitum* nos potes laterais composta de xarope de sacarose (50% v/v) em eppendorfs preparados e pesados previamente. No fundo interno dos potes laterais foi depositado papel filtro com 30 mm de diâmetro. No papel filtro de um dos potes laterais foi adicionado o timol, diluído em 1 mL de água destilada de acordo com a concentração a ser testada enquanto o papel filtro do outro pote lateral nada recebeu nada, em cada repetição foi alternado o lado em que as concentrações eram depositadas. As lâminas de plástico presentes nos tubos plásticos e que impediam a circulação das abelhas foram retiradas e o dispositivo colocado em BOD ($T = 35 \pm 1^\circ\text{C}$, UR = 65% e ausência de luz). A avaliação ocorreu com a contagem do o número de abelhas na área tratada e não tratada a cada cinco minutos durante duas horas.

3.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram feitas no programa R com uso de estatística não paramétrica usando modelos lineares generalizados (GLM), análise de variância e teste de Tukey ou chi quadrado a um nível de significância de 5%.

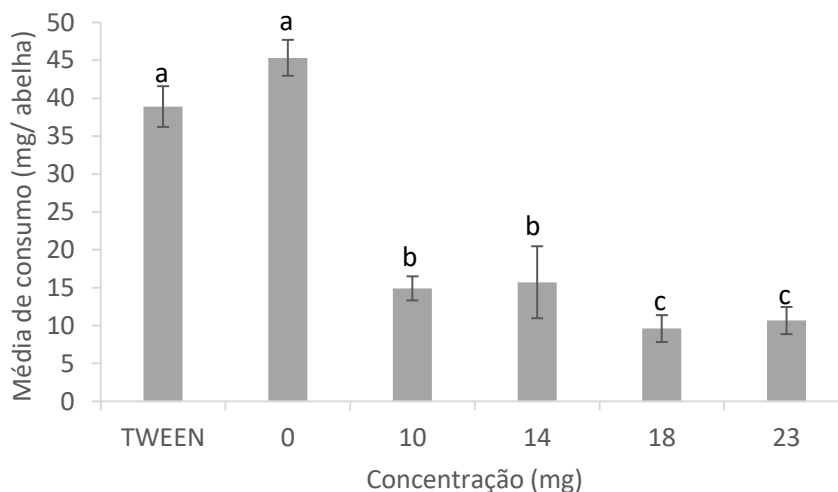
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito do timol sobre a *A. mellifera*

Os resultados do teste de consumo mostram que o uso do timol nas concentrações testadas promoveu diminuição, de forma significativa de acordo com a estatística, no consumo por abelha nas primeiras 5 horas de oferta do alimento com xarope e timol em relação ao controle (Figura 3), principalmente nas maiores concentrações 18 e 23 miligramas. Uma abelha operária adulta necessita de aproximadamente 4mg de açúcares aproveitáveis por dia para sobreviver (BARKER E LEHNER, 1974)

A média de consumo geral ficou por volta de 22,5 miligramas por abelha, o que pode justificar esse consumo cinco vezes maior além de consumir um alimento contaminado, é que em momentos em que as abelhas enjauladas não veem outra opção aumentam a aceitação de alimentos que, de outra forma, seriam rejeitados (DESMEDT et al., 2016), porém Kessler et al. (2015) encontrou resultado diferente, onde as abelhas preferiram as soluções contendo o pesticida, apesar desses pesticidas as fazerem comer menos comida em geral.

Figura 3. Consumo médio de alimento da *Apis mellifera* por abelha de diferentes concentrações de alimento com xarope de sacarose e timol emulsificado com Tween 80 durante 5 horas de exposição. UFT, Gurupi, 2021.



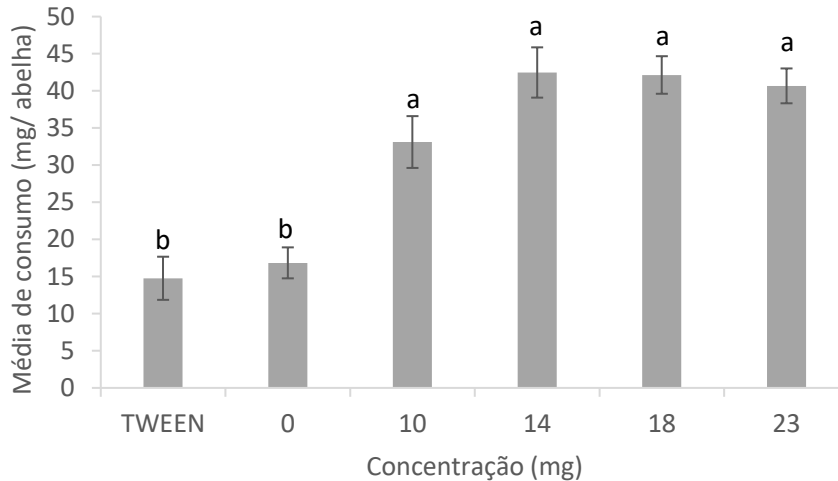
Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Chi-quadrado, $p < 0,05$.

Foi observado que após a troca da alimentação, da sexta hora até às 24 horas do experimento, onde foi ofertado apenas xarope também houve diferença significativa em relação

ao controle, em todas as concentrações (Figura 4), que tem média de 31,6 miligramas de xarope por abelha.

Figura 4. Consumo médio de alimento da *Apis mellifera* por abelha de xarope de sacarose das 6 às 24 horas de exposição. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Chi-quadrado, $p < 0,05$.

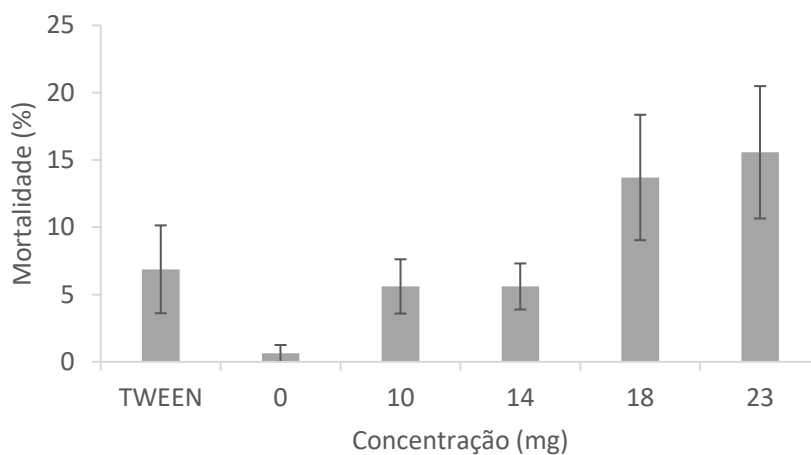
A diferença entre o consumo de xarope com timol em todas as concentrações e o consumo do xarope no tratamento controle ou do xarope com o detergente tween demonstra que a presença de timol teve efeito direto no baixo consumo da alimentação nas primeiras cinco horas (Figura 3), e as abelhas compensaram esse menor consumo quando tiveram acesso a alimentação apenas com xarope (Figura 4) consumindo o dobro. As abelhas possuem receptores gustativos que respondem a diferentes tipos de compostos, então uma das hipóteses é não terem gostado do sabor do timol no alimento. Porém esse é um campo de pesquisa pouco explorado e pouco conhecido, a *A. mellifera* possui apenas dez receptores gustativos, sendo a biologia da percepção do paladar das abelhas certamente muito complexa (SANCHEZ et al., 2007). Chapuy et al. (2019) relataram que o timol não afetou a detecção de odor no nível da antena, porém, modificou traços de memória específicos.

O timol não demonstrou efeito tóxico agudo quando ingerido pelas abelhas *A. mellifera* nas primeiras horas de oferta do alimento contendo o timol (Figura 5). Pôde-se observar que o uso do timol promoveu aumento significativo na mortalidade das abelhas adultas em relação ao controle, em todas as concentrações testadas, à medida que a concentração é elevada a taxa de mortalidade acompanha sendo observada na concentração mais alta de 23 miligramas a maior taxa de mortes das abelhas, de 15,5 %. As maiores taxas de mortalidade ocorreram na

concentração de 23 miligramas nas primeiras 24 horas, porem em todos os casos, a mortalidade foi considerada baixa, pois a média não passou de 20% de mortalidade para todos os tratamentos testados, podendo as mortes terem relação com o baixo consumo do xarope nas primeiras horas como mostra a Figura 3. Por sua vez Gregorc et al. (2018) encontraram resultados parecidos usando Apiguard[®] gel produto comercial a base de timol para o controle do ácaro *Varroa destructor*, que registrou aproximadamente 5% de mortalidade das abelhas adultas em testes de gaiolas, o considerando relativamente seguro para as abelhas adultas.

Nas primeiras cinco horas de exposição das abelhas ao timol, não foi observada diferença significativa na mortalidade em todas as concentrações, o que pode indicar que o timol não possui efeito toxico agudo, porem como mostra a Figura 6 ele pode ter um efeito crônico.

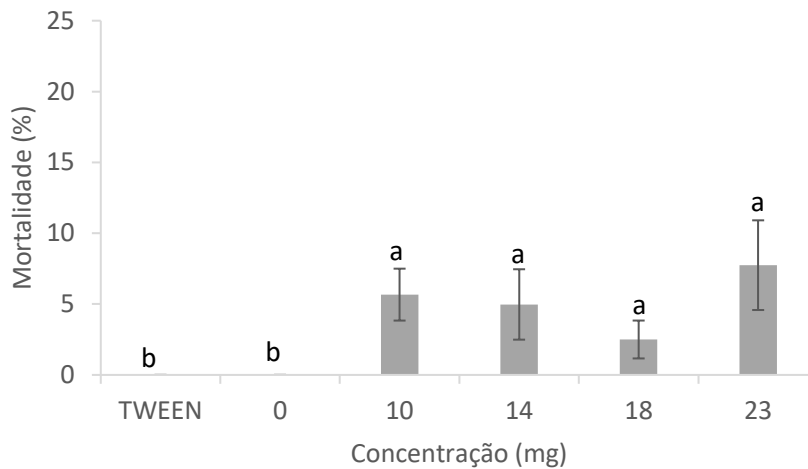
Figura 5. Média da mortalidade de abelhas *Apis mellifera* após consumo de diferentes concentrações de xarope sacarose misturado com timol, emulsificado com Tween 80 durante 5 horas de exposição. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Após as 24 horas observou-se diferença significativa na mortalidade nas concentrações 10, 14, 18 e 23 miligramas testadas comparadas ao controle (Figura 6).

Figura 6. Média da mortalidade de abelhas *Apis mellifera* após consumo de diferentes concentrações de xarope sacarose misturado com timol, emulsificado com Tween 80 das 6 as 24 horas de exposição. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Chi-quadrado, $p < 0,05$.

Os testes de mortalidade demonstraram que as mortes foram proporcionais à medida que se elevou a concentração, em que a concentração mais alta, de 23 miligramas, foi a que obteve maior média de mortalidade para esta espécie, aproximadamente 8%. É possível observar no gráfico da Figura 6, que todas as concentrações testadas obtiveram valores com diferença significativa em relação ao controle e apresentaram toxicidade para *A. mellifera*. Como foi observado não houve diferença significativa nas primeiras horas, porém ao decorrer do experimento as abelhas adultas apresentaram mortalidade significativa em relação ao controle, observa-se também que apesar de haver diferença significativa no consumo das concentrações mais altas a mortalidade para todas as concentrações não diferiram entre si, o que demonstra o efeito tóxico de todas. Porém vale ressaltar que na concentração mais alta a mortalidade não alcançou 10%. O timol é um monoterpenoide de ocorrência natural, e as abelhas são resistentes aos efeitos tóxicos de muitos Metabólitos vegetais secundários individuais, ou fitoquímicos, pois são coletados rotineiramente pelas forrageadoras em néctar, pólen e resinas, e estão normalmente presentes no mel (BERENBAUM e LIAO, 2019).

Castagnino e Orsi (2012), constataram durante seu experimento com produtos vegetais que, o timol não apresentou efeito significativo na mortalidade das abelhas *A. mellifera*, em comparação ao controle, resultados também encontrados por Gashout et al. (2018) onde o timol foi considerado o acaricida menos tóxico e mais seguro para as abelhas. Em outros estudos demonstrou ser efetivo contra larvas dos aracnídeos (carrapatos) *Rhipicephalus microplus* e *Ixodes ricinus* (ARAÚJO et al., 2015; TABARI et al., 2017).

Maistrello et al. (2008) também testaram alguns compostos naturais, dentre elas o timol para o tratamento da nosemose (ocasionada pela infecção das abelhas por um microsporídeo *Nosema ceranae*), com o fornecimento de timol 0,12 mg / g na alimentação não apresentou efeito tóxico nas abelhas ou efeito anti-alimentação, diferente do que foi encontrado neste trabalho que apresentou diminuição do consumo na presença do timol nas concentrações testadas conforme mostra a Figura 3.

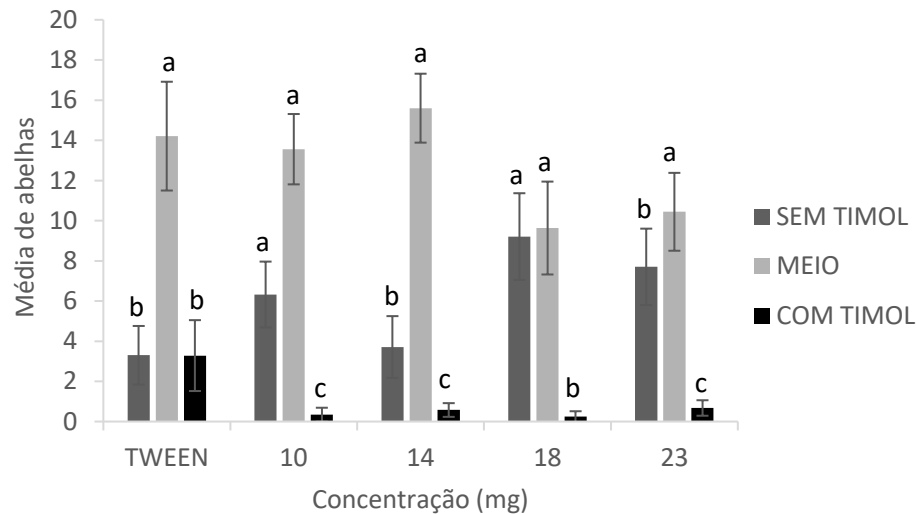
Apesar do timol não ter apresentado mortalidade significativa nas concentrações testadas, existem efeitos colaterais do timol que não foram avaliados neste trabalho, como por exemplo sua persistência em altos níveis por vários meses em cera de criação (CARAYON et al., 2014) e a presença de resíduos em produtos apícolas como o mel (SERRA BONVEHÍ et al., 2016), Floris et al. (2004) identificaram resíduos em ambos os produtos tanto na cera como no mel, porém em maiores quantidades na cera porque o timol é solúvel em gordura.

No entanto apesar desses possíveis efeitos colaterais, seus efeitos são significativamente menores quando comparados aos inseticidas sintéticos que deixam resíduos nos alimentos e contaminam o ambiente além de outros efeitos negativos, o que não acontece com extratos botânicos que geralmente são voláteis e se apresentarem efeito tóxico para alguns organismos não alvo, eles permanecem menos tempo no ambiente evitando assim o contato do organismo com seus resíduos.

4.2 Avaliação do efeito repelente em *A. mellifera*

Os resultados do teste de repelência com chance de escolha o timol demonstrou-se eficiente sobre a *A. mellifera* sendo que durante o experimento mostrou diferença significativa entre todos os tratamentos quando comparado dentro de cada concentração, com timol e sem timol (Figura 8), alcançando durante todo o período de avaliação da repelência o número de abelhas na presença do timol inferior a 4 abelhas em todas as concentrações. O timol manteve uma grande diferença em relação ao número de abelhas presentes no controle (tween 80) como mostra a Figura 8, demonstrando que o tween não causou interferência no resultado.

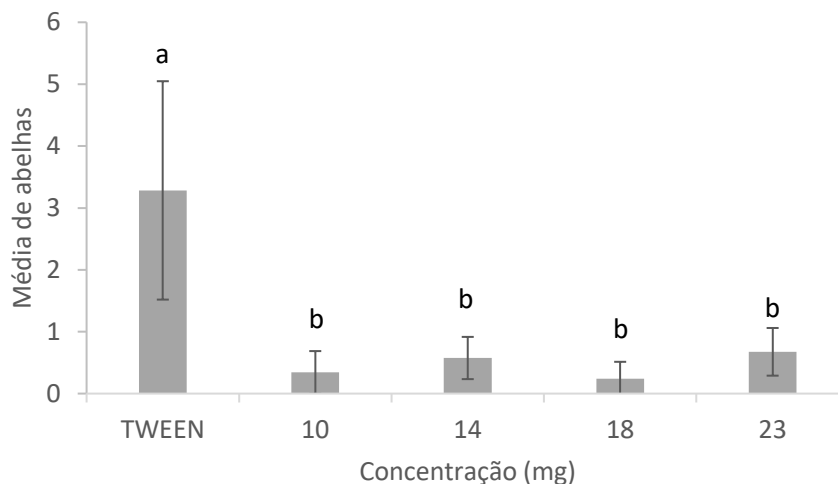
Figura 7. Número médio de abelhas *A. mellifera* em cada concentração, durante a realização do bioensaio de repelência após 2 horas na presença do timol. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Chi-quadrado, $p < 0,05$.

Figura 8. Número médio de abelhas *A. mellifera* entre as concentrações, durante a realização do bioensaio de repelência após 2 horas na presença do timol.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Chi-quadrado, $p < 0,05$.

O timol é um composto secundário e monoterpeneo é encontrado em diversas plantas aromáticas (Nostro & Papalia, 2012). Os monoterpenos podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos herbívoros, sendo que a maioria deles age apenas como repelente (LIMA et al., 2007). Mondet et al. (2011) observou que as abelhas forrageiras foram repelidas pelo Apiguard®, e que a resposta ao tratamento muda conforme a idade da abelha, o timol se mostra um eficiente repelente contra o mosquito *Culex pipiens pallens* (PARK

et al., 2005), e um modulador alostérico positivo dos receptores GABA (neurotransmissor) da *Drosophila melanogaster* (PRIESTLEY et al., 2003).

Embora o mecanismo de ação do timol nas abelhas ainda não seja totalmente compreendido, foi demonstrado que o timol tem efeitos tóxicos em vários organismos por meio da inibição da acetilcolinesterase (AChE) (JUKIC et al., 2007). A enzima AChE é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas e isso afeta a transmissão dos impulsos nervosos do sistema nervoso dos insetos, que é responsável por funções vitais, incluindo tônus muscular esquelético, peristaltismo intestinal e secreção. Se a AChE for inibida, a ACh nos insetos ficará constantemente ativa, resultando em hiperatividade nervosa, tetania e morte. Assim, os potenciais efeitos do timol na AChE de *A. Mellifera* ainda precisa ser fornecido.

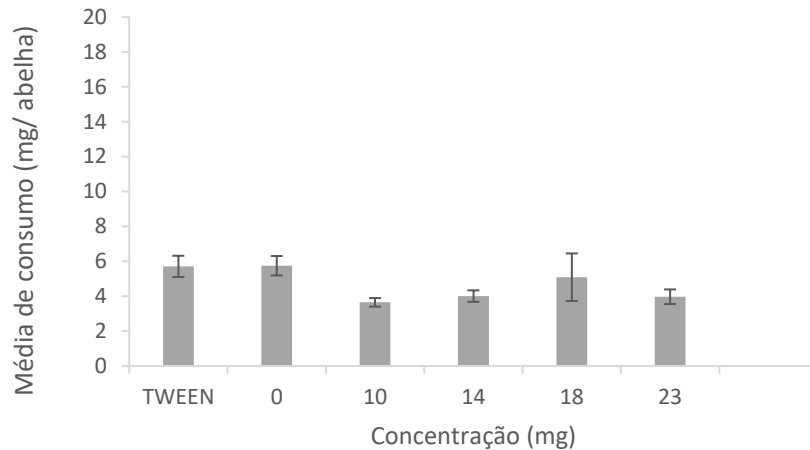
Sendo assim nas concentrações mais altas apesar de não apresentar toxicidade aguda há efeitos subletais que não foram estudados no presente trabalho, mas encontrados por Glavan et al. (2020) sobre a abelha operaria *Apis mellifera carnica*, efeitos demonstrados pelo timol e pelo carvancrol.

No teste de repelência com chance de escolha apresentou um efeito repelente significativo no decorrer dos 120 minutos observados, tal efeito pode ter provocado nos primeiros testes de consumo um baixo valor de ingestão por abelha quando o xarope foi tratado com timol (Figura 3). Resultados parecidos com o Raffique et al. (2012) e Colin et al. (2019), que também observaram baixa toxicidade e efeito repelente do timol sobre as abelhas adultas *A. mellifera*, além de estimular a expressão do comportamento higiênico após o tratamento na colmeia.

4.3 Efeito do timol sobre *Scaptotrigona postica*

Os resultados do teste de ingestão mostram que o uso do timol nas concentrações testadas não promoveu diminuição, de forma significativa de acordo com a estatística, no consumo por abelha nas primeiras 5 horas de oferta do alimento com xarope e timol em relação ao controle (Figura 9). O consumo médio foi de 4,67 miligramas por abelha durante as cinco horas de oferta do alimento tratado.

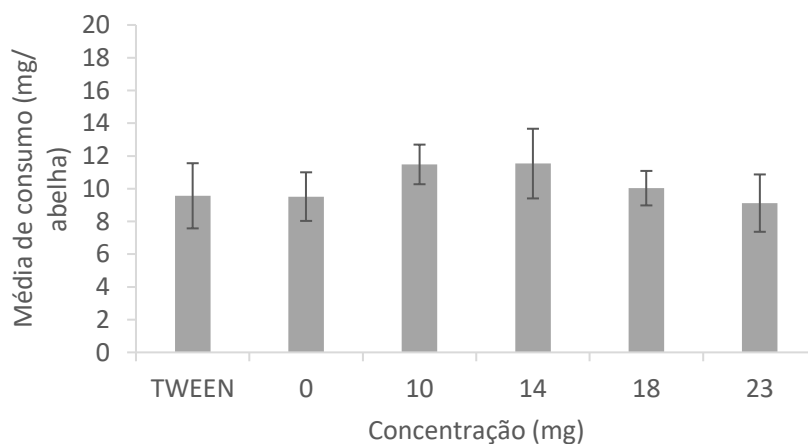
Figura 9. Consumo médio de alimento da *Scaptotrigona postica* por abelha de diferentes concentrações de xarope sacarose misturado com o timol emulsificado com Tween 80 durante 5 horas. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Foi observado que após a troca da alimentação, da sexta hora até às 24 horas do experimento, onde foi ofertado apenas xarope que também não houve diferença significativa em relação ao controle, em todas as concentrações (Figura 10), que tem média de 10,22 miligramas de xarope por abelha.

Figura 10. Consumo médio de alimento da *Scaptotrigona postica* por abelha de xarope sacarose das 6 às 24 horas de exposição. UFT, Gurupi, 2021.

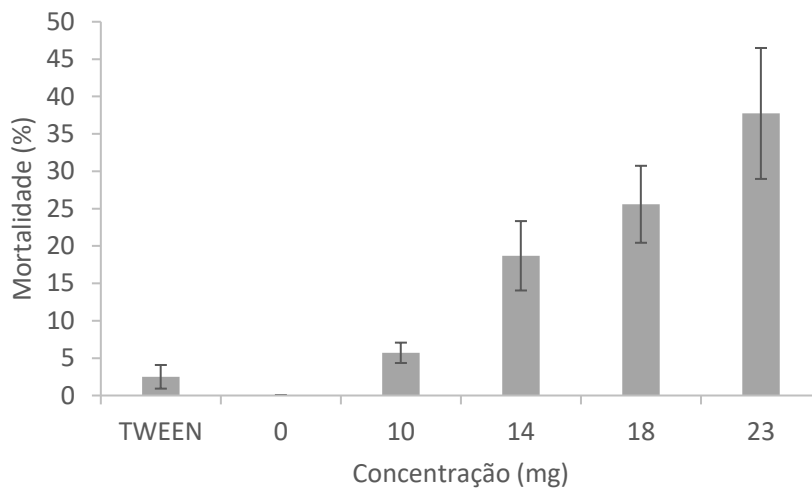


Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Foi observado maior toxicidade aguda de acordo com o aumento das concentrações de timol sobre a abelha *S. postica* (figura 11). Na maior concentração testada 23 miligramas de

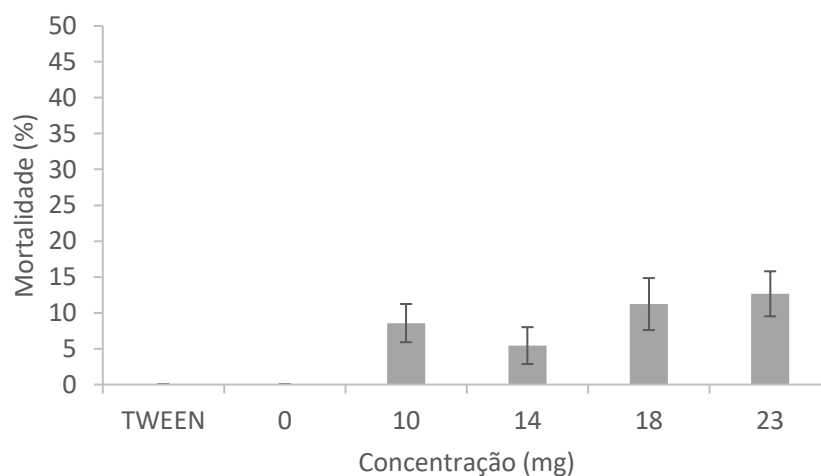
timol a taxa de morte foi de aproximadamente 38 %, quase 4 vezes maior que a taxa encontrada para a *A. mellifera* para a mesma concentração. Observa-se que a medida em que a concentração ofertada de timol aumenta o número de mortes acompanha, o que demonstra a toxicidade do timol para essa espécie de abelha desde a menor concentração. A abelha *Melipona scutellaris* também demonstrou ser mais sensível ao tiametoxam e fipronil do que a *A. mellifera* (MIOTELO et al., 2021; LOURENÇO et al., 2012). Arena e Sgolastra (2014), reforçam essa maior sensibilidade das abelhas sem ferrão em comparação a várias outras espécies.

Figura 11. Porcentagem média da mortalidade de abelhas *Scaptotrigona postica* após consumo de diferentes concentrações de xarope sacarose misturado com timol em 5 horas. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Figura 12. Porcentagem média da mortalidade de abelhas *Scaptotrigona postica* após consumo de xarope sacarose das 6 as 24 horas. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

O efeito subletal após as 24 horas para essa espécie foi menor sendo de aproximadamente 13% (Figura 12), uma média também maior quando comparada a *Apis* no mesmo período de tempo.

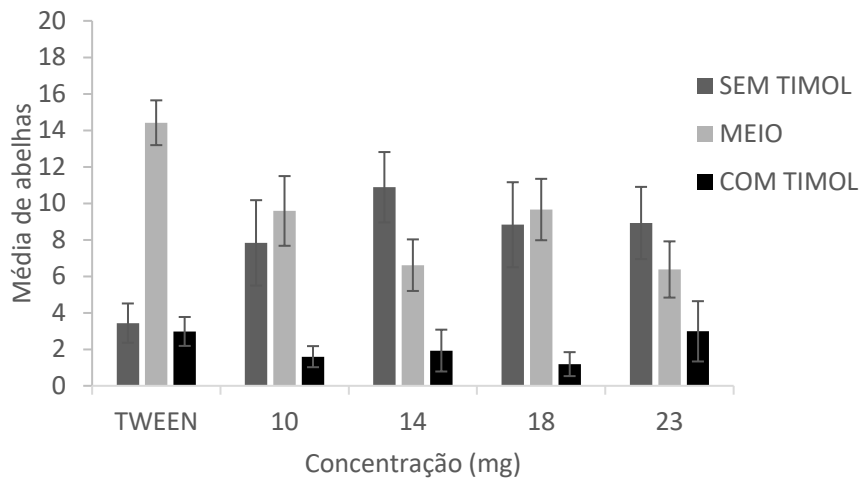
Por sua origem de plantas ou outros matérias naturais, os biopesticidas são considerados menos prejudiciais aos considerados insetos benéficos, incluindo as abelhas e, por esse motivo aumenta o incentivo do uso desses produtos nos insetos considerados pragas. Porém para Barbosa et al. (2015) os bioinseticidas podem representar riscos significativos para polinizadores nativos com efeitos letais e subletais,

As abelhas nativas visitam e são responsáveis por polinizar tanto plantas silvestres como cultivadas. Tomé et al. (2015) destacou que as abelhas nativas sem ferrão são os principais polinizadores em áreas neotropicais e estão ameaçadas de extinção devido ao desmatamento e uso de pesticidas. Esses inseticidas químicos afetam a sobrevivência e são tóxicos para as espécies de abelhas nativas *Scaptotrigona* aff. *Depilis* e *Trigona spinipes* (ROSA et al., 2016; MACIEIRA E HEBLING-BERALDO, 1989).

4.4 Avaliação do efeito repelente em *Scaptotrigona postica*

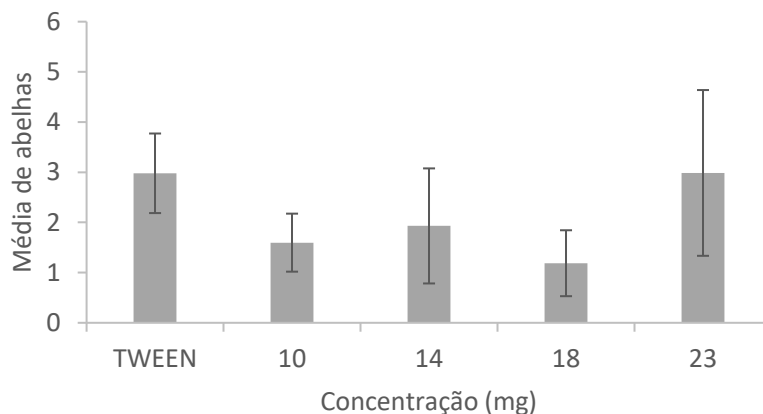
Nos resultados do teste de repelência com chance de escolha o timol demonstrou-se efeito repelente sobre a *S. postica* sendo que durante o experimento mostrou diferença significativa entre todos os tratamentos quando comparado dentro de cada concentração, com timol e sem timol (Figura 13), alcançando durante todo o período de avaliação da repelência o número médio de 3 abelhas na presença do timol em todas as concentrações. O timol não manteve diferença em relação ao número de abelhas presentes no controle (tween 80) como mostra a Figura 14. O timol então também apresentou efeito repelente para as abelhas *S. postica* em todo o decorrer da observação de 120 minutos.

Figura 13. Número médio de abelhas *Scaptotrigona postica* em cada concentração, durante a realização do bioensaio de repelência após 2 horas na presença do timol. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Figura 14. Número médio de abelhas *Scaptotrigona postica* entre as concentrações, durante a realização do bioensaio de repelência após 2 horas na presença do timol. UFT, Gurupi, 2021.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2021).

Os efeitos dos OEs contra insetos-pragas e vetores podem ser classificados em dois grupos principais, a saber, comportamentais (por exemplo, repelente, anti-alimentar, inibição da oviposição) e fisiológicos (por exemplo, toxicidade aguda e subletal, inibição do desenvolvimento e crescimento) (ISMAN, 2017). Alguns desses efeitos foram observados neste trabalho, ainda assim o uso de estratégias de biocontrole é preferível e a utilização do manejo integrado de pragas que visa minimizar o impacto ambiental (JACK e ELLIS, 2021).

Podemos então concluir que *A. mellifera* é um modelo de inseto polinizador em testes de avaliação de risco de agrotóxicos para abelhas, porem existem incertezas se essa espécie e a melhor escolha como organismo indicador para proteger as espécies nativas do Brasil (IBAMA,

2017). Essas incertezas só serão esclarecidas conforme for estudado e comparado os efeitos tanto de inseticidas químicos como biológicos em diferentes espécies de abelhas como também seu efeito na colmeia.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Timol composto majoritário da *L. sidoides* é utilizado para o controle de algumas pragas como inseticida e repelente, entretanto apesar de não se mostrar tóxico para a *A. mellifera* se mostrou tóxico para a abelha sem ferrão *S. postica*.

Foi avaliado a hipótese de que o Timol possui efeito tóxico para insetos da espécie *A. mellifera* e *S. postica*, e a partir dos resultados obtidos, nas concentrações testadas neste trabalho e em condições de laboratório o timol apesar de ser um produto vegetal apresentou efeito inseticida sobre a abelha *S. postica*, e subletal nas abelhas *A. mellifera*.

No teste de mortalidade a *A. mellifera* não mostrou toxicidade ao composto, apresentando baixa mortalidade, já para a *S. postica* apresentou alta taxa de mortalidade proporcional a concentração, sendo a mais tóxica a concentração mais alta. Também foi observado neste teste efeito anti- alimentação provocada pelo Timol presente no alimento para as ambas espécies.

Na avaliação de repelência com chance de escolha as duas espécies apresentaram repelência ao Timol sendo todas as concentrações testadas repelentes, pois o Timol inibiu quase totalmente a visitação das abelhas aos potes contaminados, durante todo o período de avaliação.

Assim podemos concluir que a abelha *A. mellifera* não é o modelo mais apropriado ou único para determinar a toxicidade de inseticidas para abelhas em geral. Uma maneira de remediar esta dúvida seria realizar comparações com *A. mellifera* e espécies nativas quanto aos níveis de exposição e à toxicidade dos pesticidas.

Portanto o timol nas concentrações testadas não foi considerado seguro para todos os insetos não-alvo avaliados nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, L. X. et al. Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. **Parasitology research**, v. 114, n. 9, p. 3271-3276, 2015.
- ARENA, M; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 324-334, 2014.
- BARTLETT, L. J. Frontiers in effective control of problem parasites in beekeeping. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 17, p. 263-272, 2022.
- BARBOSA, W. F. et al. Biopesticide-induced behavioral and morphological alterations in the stingless bee *Melipona quadrifasciata*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 9, p. 2149-2158, 2015.
- BALDIM, I. et al. *Lippia sidoides* essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-Candida agent. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 73-81, 2019.
- BARKER, R. J.; LEHNER, Y. Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Experimental Zoology**, v. 187, n. 2, p. 277-285, 1974.
- BERENBAUM, M. R.; LIAO, L. Honey bees and environmental stress: Toxicologic pathology of a superorganism. **Toxicologic pathology**, v. 47, n. 8, p. 1076-1081, 2019.
- BOVORNANTHADEJ, T. et al. Effect of thymol on reproductive biology of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Commun Agric Appl Biol Sci**, v. 78, p. 311-315, 2014.
- BOTELHO, M.A. et al. Nanotechnology in phytotherapy: antiinflammatory effect of a nanostructured thymol gel from *Lippia sidoides* in acute periodontitis in rats. **Phytotherapy research**, v. 30, n. 1, p. 152-159, 2016.
- CAMILO, C. J. et al. Acaricidal activity of essential oils: a review. **Trends in Phytochemical Research**, v. 1, n. 4, p. 183-198, 2017.
- CARAYON, J. et al. Thymol as an alternative to pesticides: persistence and effects of Apilife Var on the phototactic behavior of the honeybee *Apis mellifera*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 7, p. 4934-4939, 2014.
- CALATAYUD-VERNICH, P. et al. A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. **Chemosphere**, v. 232, p. 471-480, 2019.
- CASTAGNINO, G. L. B. ; ORSI, R. D. O. Produtos naturais para o controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.738-744, 2012.

CHAPUY, C. et al. Thymol affects congruency between olfactory and gustatory stimuli in bees. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.

CHARPENTIER, G. et al. Lethal and sub-lethal effects of thymol on honeybee (*Apis mellifera*) larvae reared in vitro. **Pest management science**, v. 70, n. 1, p. 140-147, 2014.

COLIN, T. et al. Effects of thymol on European honey bee hygienic behaviour. **Apidologie**, v. 50, n. 2, p. 141-152, 2019.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011.

DESMEDT, L. et al. Absence of food alternatives promotes risk-prone feeding of unpalatable substances in honey bees. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

EMSEN, B. et al. The efficacy of thymol and oxalic acid in bee cake against bee mite (*Varroa destructor* Anderson & Trueman) in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, v. 21, p. 41-45, 2015.

FERREIRA, T. P. S. et al. Fungistatic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. against *Curvularia lunata*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 14, p. 704-713, 2018.

FIGUEIREDO, M. B. et al. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 1, p. 63-69, 2017.

FLORIS, I. et al. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues. **Journal of economic entomology**, v. 97, n. 2, p. 187-191, 2004.

GASHOUT, H. A.; GUZMAN-NOVOA, E.; GOODWIN, P. H. Synthetic and natural acaricides impair hygienic and foraging behaviors of honey bees. **Apidologie**, v. 51, n. 6, p. 1155-1165, 2020.

GASHOUT, H. A.; GOODWIN, P. H.; GUZMAN-NOVOA, E. Lethality of synthetic and natural acaricides to worker honey bees (*Apis mellifera*) and their impact on the expression of health and detoxification-related genes. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 34, p. 34730-34739, 2018.

GASHOUT, H. A.; GUZMÁN-NOVOA, E. Acute toxicity of essential oils and other natural compounds to the parasitic mite, *Varroa destructor*, and to larval and adult worker honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of apicultural research**, v. 48, n. 4, p. 263-269, 2009.

GLAVAN, Gordana et al. Comparison of sublethal effects of natural acaricides carvacrol and thymol on honeybees. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 166, p. 104567, 2020.

GREGORC, A. et al. Toxicity of selected acaricides to honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa* (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and their use in controlling varroa within honey bee colonies. **Insects**, v. 9, n. 2, p. 55, 2018.

GUZMAN-NOVOA, E. Colony collapse disorder and other threats to honey bees. **One health case studies: addressing complex problems in a changing world**, p. 204-216, 2016.

IBAMA. Nota Técnica Avaliação De Risco De Agrotóxicos. [Internet]. 2017. p. 18. Disponível

em: https://www.ibama.gov.br/phocadownload/noticias/noticias2017/nota_tecnica_avaliacao_de_risco_de_agrotoxicos.pdf.

ISBELL, F. et al. Linking the influence and dependence of people on biodiversity across scales. **Nature**, v. 546, n. 7656, p. 65-72, 2017.

ISMAN, M. B. Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. **Phytoparasitica**, v. 25, n. 4, p. 339-344, 1997.

ISMAN, M. B. Bridging the gap: Moving botanical insecticides from the laboratory to the farm. **Industrial Crops and Products**. v. 110, p. 10-14. 2017.

JACK, C. J.; ELLIS, J. D. Integrated Pest Management Control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), the Most Damaging Pest of (*Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)) Colonies. **Journal of Insect Science**, v. 21, n. 5, p. 6, 2021.

JUKIC, M.; POLITEO, O.; MAKSIMOVIC, M.; MILOS, M. In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. **Phytotherapy Research**, v.21, n.3, p.259–261, 2007.

KLEIN, A. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the royal society B: biological sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

LAMICHHANE, J. R. et al. Toward a reduced reliance on conventional pesticides in European agriculture. **Plant Disease**, v. 100, n. 1, p. 10-24, 2016.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: importantes essenciais com ação biológica e antioxidante. **Revista Fitos**, v. 3, n. 3, p. 14-24, 2007.

LOURENÇO, C. T. et al. Oral toxicity of fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 89, n. 4, p. 921-924, 2012.

MACIEIRA, O. JD.; HEBLING-BERALDO, M. J. A. Laboratory toxicity of insecticides to workers of *Trigona spinipes* (F., 1793) (Hymenoptera, Apidae). **Journal of apicultural research**, v. 28, n. 1, p. 3-6, 1989.

MAISTRELLO, L. et al. Screening of natural compounds for the control of nosema disease in honeybees (*Apis mellifera*). **Apidologie**, v. 39, n. 4, p. 436-445, 2008.

MAHMOOD, R. et al. Effect of thymol and formic acid against ectoparasitic brood mite *Tropilaelaps clareae* in *Apis mellifera* colonies. **Pakistan J. Zool**, Paquistão, v. 43, n. 1, p. 91-95. 2011.

MONDET, F.; GOODWIN, M.; MERCER, A. Age-related changes in the behavioural response of honeybees to Apiguard®, a thymol-based treatment used to control the mite *Varroa destructor*. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 197, n. 11, p. 1055, 2011.

MELO, M. T. P. et al. Produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) em diferentes espaçamentos de plantio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 230-234, 2011.

MIOTELO, L. et al. *Apis mellifera* and *Melipona scutellaris* exhibit differential sensitivity to thiamethoxam. **Environmental Pollution**, v. 268, p. 115770, 2021.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in plant science**, v. 19, n. 1, p. 29-35, 2014.

MORAIS, LILIA APARECIDA SALGADO DE. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009.

NOSTRO, A.; PAPALIA, T. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future perspectives. **Recent patents on anti-infective drug discovery**, v. 7, n. 1, p. 28-35, 2012.

OLLERTON, J. Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 48, p. 353-376, 2017.

PARK, B. et al. Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 21, n. 1, p. 80-83, 2005.

PAVELA, R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects—a review. **Plant Protection Science**, v. 52, n. 4, p. 229-241, 2016.

PINHEIRO, I. et al. Effects of *Lippia sidoides* Cham.(Verbenaceae) essential oils on the honey bees *Apis mellifera* (Apidae: Hymenoptera) foraging. **Revista de Ciências Agrícolas**, v. 36, n. SPE, p. 31-41, 2019.

POTRICH, M. et al. Are plant extracts safe for honey bees (*Apis mellifera*)?. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 844-851, 2020.

PRIESTLEY, C. M. et al. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. **British journal of pharmacology**, v. 140, n. 8, p. 1363-1372, 2003.

RAFFIQUE, M. K. et al. Control of *Tropilaelaps clareae* mite by using formic acid and thymol in honey bee *Apis mellifera* L. colonies. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 44, n. 4, 2012.

- ROSA, A.D.S et al. Consumption of the neonicotinoid thiamethoxam during the larval stage affects the survival and development of the stingless bee, *Scaptotrigona aff. depilis*. **Apidologie**, v. 47, n. 6, p. 729-738, 2016.
- SALEHI, B. et al. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 9, p. 1688-1706, 2018.
- SABAHI, Q. et al. Evaluation of Dry and Wet Formulations of Oxalic Acid, Thymol, and Oregano Oil for Varroa Mite (Acari: Varroidae) Control in Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 6, p. 2588-2594, 2020.
- SERRA BONVEHÍ, J.; VENTURA COLL, F.; RUIZ MARTÍNEZ, J. A. Residues of essential oils in honey after treatments to control *Varroa destructor*. **Journal of Essential oils Research**, v. 28, n. 1, p. 22-28, 2016.
- SILVA, F. W. S. et al. Nutrientes afetando as mudas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) e seus artrópodes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 1, p. 18-23, ago. 2009.
- TABARI, M. A. et al. Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary parasitology**, v. 245, p. 86-91, 2017.
- TOMÉ, H. V. V. et al. Imidacloprid-induced impairment of mushroom bodies and behavior of the native stingless bee *Melipona quadrifasciata* anthidioides. **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e38406, 2012.
- TSCHOEKE, H. P. et al. Botanical and synthetic pesticides alter the flower visitation rates of pollinator bees in neotropical melon fields. **Environmental Pollution**.v. 251, p.591-599 2019.
- VERAS, H. N. H. et al. Antimicrobial effect of *Lippia sidoides* and thymol on *Enterococcus faecalis* biofilm of the bacterium isolated from root canals. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.
- WALIWIYIYA, R. et al. Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 66, n. 3, p. 277-289, 2010.