



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE (UFCG)
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR (CCTA)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS (PPGSA)
CAMPUS POMBAL

ANDERSON BRUNO ANACLETO DE ANDRADE

**POTENCIAL TOXICOLÓGICO *IN VITRO* DO PÓLEN DE PLANTAS APÍCOLAS
DA CAATINGA**

POMBAL, PARAÍBA
2018

ANDERSON BRUNO ANACLETO DE ANDRADE

**POTENCIAL TOXICOLÓGICO *IN VITRO* DO PÓLEN DE PLANTAS APÍCOLAS
DA CAATINGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais (PPGSA), do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre em Sistemas Agroindústrias.

Orientador: Prof. Dr. Patrício Borges Maracajá

POMBAL, PARAÍBA
2018

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS POMBAL/CCTA/UFCG**

DIS

A553p

Andrade, Anderson Bruno A. de.

Potencial toxicológico *in vitro* do pólen de plantas apícolas da caatinga /Anderson Bruno Anacleto de Andrade. – Pombal, 2018. 41f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2018.

"Orientação: Prof. Dr. Patrício Borges Maracajá".

1. Apicultura. 2. Alimentação de abelhas. 3. Plantas apícolas. I. Maracajá, Patrício Borges. II. Título.

UFCG/CCTA

CDU 638.1(043)

CAMPUS DE POMBAL

POTENCIAL TOXICOLÓGICO DO PÓLEN DE PLANTAS APÍCOLAS DA CAATINGA
in vitro

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal-PB, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre (M.Sc.) em Sistemas Agroindustriais.

Aprovada em 09/03/2018

COMISSÃO EXAMINADORA



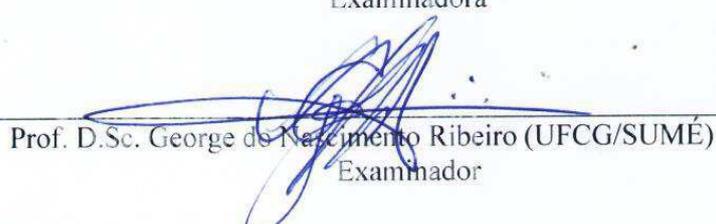
Prof. D.Sc. Patrício Borges Maracajá
Orientador



Prof.ª D.Sc. Rosilene Agra da Silva
Examinadora



Prof.ª D.Sc. Mônica Tejo Cavalcanti
Examinadora


Prof. D.Sc. George do Nascimento Ribeiro (UFPA/SUMÉ)
Examinador

POMBAL-PB
2018

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar-me e ter-me concedido essa graça;

A meus pais, Antônio Anacleto Duarte e Maria Neuza de Andrade Duarte por sempre acreditarem na minha vitória e serem os maiores incentivadores de meus sonhos;

A meus irmãos Andreza Bruna Anacleto de Andrade, Alicy Anacleto de Andrade e Alan Anacleto de Andrade pelo companheirismo e carinho;

A meus queridos avós Maria Adelaide e José Inácio, Chicô Paulo (*in memoriam*) e Jurací Anacleto (*in memoriam*), que foram durante minha vida um porto de carinho e incentivo;

A meu orientador, amigo e pai Patrício Borges Maracajá, pela oportunidade e confiança, por tudo que me ensinou, por sempre acreditar na minha capacidade;

A professora Rosilene Agra da Silva, por sua amizade, dedicação, apoio, pelos seus conselhos e sugestões, além das palavras de ânimo que sempre me incentivaram;

A Professora Mônica Tejo Cavalcanti e o Professor George do Nascimento Ribeiro pela disponibilidade e contribuições para a finalização dessa etapa na minha formação;

Aos Professores e funcionários da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal por contribuir com minha formação acadêmica desde a graduação, em especial, ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais, pela acolhida e oportunidade de realização do Curso.

A todos os amigos e colegas que participaram dessa caminhada e certamente contribuíram muito para essa realização;

Por fim a todos aqueles que de uma forma direta ou indiretamente contribuíram para que esse momento se tornasse uma realidade. Obrigado!

*Tudo é do Pai
Toda honra e toda glória
É dele a vitória alcançada em minha vida.
(Frederico Cruz)*

ANDRADE, A. B. A. **Potencial toxicológico *in vitro* do pólen de plantas apícolas da caatinga.** 2018. 41f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

RESUMO

Objetivou-se estudar o potencial toxicológico do pólen de plantas consideradas apícolas presentes na caatinga sob as abelhas operárias *Apis mellifera*, em condições de laboratório, avaliando a toxicidade aguda frente a *Artemia salina*, e toxicidade de componentes alimentares *in vitro* sob comportamento de sobrevivência de *A. mellifera* na presença do pólen de *Mimosa tenuiflora*, *Piptadenia stipulacea* e *Anadenanthera colubrina*. No bioensaio para determinação da toxicidade aguda dos pólenes frente a *A. salina*, em que, separados em grupos de 10 náupios utilizando-se tubos de ensaio preparados com a solução contendo 5000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de água do mar e diferentes concentrações do extrato de pólen (31,25; 62,5; 125; 250; 500; 750; 1000; 1250; 1500 e 3000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) em triplicata. Após 24 horas de exposição, foi realizada a contagem dos náupios vivos e mortos. Os valores de CL_{50} foram estimados a partir da regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos compostos testados. No bioensaio de toxicidade com *A. mellifera*, abelhas operárias recém emergidas foram mantidas em gaiolas de madeira, e foram fornecida a base alimentar, uma mistura de açúcar de confeitaria e mel (3:1), e adicionados concentrações do pólen das plantas estudadas nas doses 0,25%, 0,50%, 0,75% e 1,00% em relação ao peso do alimento base. Foram utilizadas 4 repetições com 20 abelhas. O levantamento da quantidade de abelhas mortas foi registrado diariamente. A análise de sobrevivência das abelhas foi realizada usando o método de Kaplan-Meier e aplicação do teste não paramétrico Log-Rank Test na comparação das curvas. No bioensaio de toxicidade aguda, os pólen testados não são tóxicos, pois apresentaram CL_{50} acima de 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Na avaliação da toxicidade sob abelhas, o pólen de *M. tenuiflora* não apresenta riscos de toxicidade. O pólen de *P. stipulacea* e *A. colubrinano* apresentam baixo potencial tóxico na alimentação das abelhas. O pólen das plantas da caatinga estudadas representam pouca ameaça para as abelhas (*A. mellifera*), pois é improvável a exposição desses insetos as concentrações que podem provocar altos efeitos tóxicos.

Palavras-chave: *Apis mellifera*. *Mimosa tenuiflora*. *Piptadenia stipulacea*. *Anadenanthera colubrina*

ANDRADE, A. B. A. **Toxicological potential *in vitro* of pollen of bee plants of the caatinga biome.** 2018. 41f. Dissertation (Master in Agroindustrial Systems) Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

ABSTRACT

The objective of this study was to study the toxicological potential of pollen bee plants found in the caatinga under laboratory conditions of *Apis mellifera* under laboratory conditions, evaluating the acute toxicity to *Artemia salina*, and toxicity of in vitro food components under the survival behavior of *A. mellifera* in the presence of pollen of *Mimosa tenuiflora*, *Piptadenia stipulacea* and *Anadenanthera colubrina*. In the bioassay to determine the acute toxicity of pollens against *A. salina*, where, separated into groups of 10 naupils using test tubes prepared with the solution containing 5000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of sea water and different concentrations of the extract of pollen (31,25; 62,5; 125; 250; 500; 750; 1000; 1250; 1500 e 3000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) in triplicate. After 24 hours of exposure, the count of live and dead nauplii. The LC_{50} values were estimated from the linear regression obtained from the correlation between the percentage of killed individuals and the concentration of the compounds tested. In the toxicity bioassay with *A. mellifera*, freshly emerged bees were kept in wooden cages, and was added to the feed base, a mixture of confectioner's sugar and honey (3:1), which added the pollen concentrations of the plants studied at the doses of 0.25%, 0.50%, 0.75% and 1.00% with respect to the weight of the base food. Four replicates were used with 20 bees. The number of dead bees was recorded daily. Bees' survival analysis was performed using the Kaplan-Meier method and the non-parametric Log-Rank Test applied in the comparison of the curves. In the acute toxicity bioassay, the pollen tested is non-toxic, as they presented LC_{50} above 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. In the evaluation of toxicity under bees, *M. tenuiflora* pollen presents no risk of toxicity. Pollen from *P. stipulacea* and *A. colubrinane* present low toxic potential in bee feeding. Pollen from the studied caatinga plants pose little threat to bees (*A. mellifera*), since insects are unlikely to exhibit concentrations that can cause high toxic effects.

Keywords: *Apis mellifera*. *Mimosa tenuiflora*. *Piptadenia stipulacea*. *Anadenanthera colubrina*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fenólicos totais do pólen de plantas apícolas da Caatinga.....	26
Tabela 2. Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>M. tenuiflora</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	27
Tabela 3 Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>M. tenuiflora</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	27
Tabela 4. Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>P. stipulacea</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	28
Tabela 5. Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>A. colubrina</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotomicrografia do pólen de <i>Mimosa tenuiflora</i> ; Flor de <i>M. tenuiflora</i>	19
Figura 2. Fotomicrografia do pólen de <i>Piptadenia stipulacea</i> ; Flor de <i>P. stipulacea</i>	20
Figura 3. Fotomicrografia do pólen de <i>Anadenanthera colubrina</i> ; Flor de <i>A. colubrina</i>	21
Figura 4. Gaiolas de madeiras utilizadas no bioensaio para toxicidade de alimentos para abelhas.....	24
Figura 5. Porcentagem de mortalidade de <i>Artemia salina</i> em relação ao aumento de concentração do pólen de <i>M. tenuiflora</i> ; <i>P. stipulacea</i> e <i>A. colubrina</i>	26
Figura 6. Curvas de sobrevivência do grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>M. tenuiflora</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	27
Figura 7. Curvas de sobrevivência do grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>P. stipulacea</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	29
Figura 8. Curvas de sobrevivência do grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de <i>A. colubrina</i> adicionado na dieta alimentar de <i>A. mellifera</i>	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Importância ecológica e econômica das abelhas	14
2.2 Alimentação natural das abelhas.....	15
2.2.1 O pólen na alimentação das abelhas.....	15
2.3 Potencial de toxicidade de alimento para abelhas.....	16
2.3.1 Métodos de avaliação de toxicidade.....	17
2.4 Flora Apícola	18
2.4.1 <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poiret. (Jurema preta).....	19
2.4.2 <i>Piptadenia stipulacea</i> (Benth.) Ducke.	20
2.4.3 <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenam. (Angico)	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Bioensaio de citotoxicidade com <i>Artemia salina</i>	23
3.2 Bioensaio de toxicidade com <i>Apis mellifera</i>	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5. CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

As abelhas produzem mel, cera, própolis, geleia real e apitóxina, além disso, esses insetos desempenham função de polinizadores, sendo, os mais importantes na execução desta tarefa. No Brasil, as abelhas são responsáveis, conforme o ecossistema, por cerca de 40 a 90% da polinização das árvores nativas e, conseqüentemente, pela produção de sementes e frutos (KERR et al., 1996, MORAES et al., 2000, SOUSA et al, 2013).

As abelhas visitam as flores em busca de alimento para suprirem suas necessidades nutricionais. De acordo com Almeida et al. (2003). O pólen e o néctar encontrado nas flores constituem basicamente a única fonte de alimento desses insetos, sendo que o pólen é uma concentrada fonte de proteínas e sais minerais e o néctar importante fornecedor de energia, contendo sacarose, frutose e glicose.

O pólen é um alimento indispensável às abelhas para desenvolvimento e sobrevivência dos enxames, pois possui os nutrientes essenciais na nutrição das larvas jovens de operárias e larvas de rainhas a partir da geleia real. O pólen é coletado e estocado nos alvéolos e a partir de processos envolvendo a ação de enzimas presentes na saliva desses insetos recebe o nome de pão das abelhas (MATTILA; OTIS, 2006).

No forrageamento das abelhas, o melhor pasto apícola é constituído por áreas de preservação, em que, há diversidade de plantas silvestres que florescem praticamente o ano todo. Segundo Wolff et al. (2008), as plantas com características subarbustivas e arbustivas nativas, em sua maioria, tendem proporcionar maiores fluxos de néctar e pólen. Porém as espécies arbóreas da Região Nordeste apresentam características melíferas importantes por serem fundamentais durante a estação seca, tendo floradas com períodos mais longos, maior concentração e diversidade de minerais na composição do néctar e pólen.

Algumas plantas arbóreas se destacam na disponibilidade de alimentos para as abelhas, dentre essas, a *Anadenanthera colubrina* (Angico) tendo registros de sua importância melífera no Semiárido Paraibano (SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2014). Outras espécies com a *Mimosa tenuiflora* (Jurema preta) e *Piptadenia stipulacea* (Jurema branca) são consideradas parte da flora apícola em todas as regiões de sua ocorrência (MAIA-SILVA et al., 2012; SILVA, 2010). Silva et al., (2014) destacam essas espécies como parte da flora apícola da região do sertão da Paraíba de acordo com os apicultores, identificando que a floração dessas espécies é influenciada pelo período chuvoso.

As abelhas são de grande importância para polinização de diversas espécies vegetais, porém muitas plantas que atraem esses agentes produzem compostos tóxicos que podem

afetar a sobrevivência desses insetos (ROTHER et al.; 2009). Segundo Lapa et al. (2002) há espécies de plantas que contêm compostos secundários no pólen e néctar com potencial tóxicos para diversos grupos de animais, principalmente os insetos polinizadores.

Bioensaios foram realizados para identificação de plantas com potencial tóxico na redução da sobrevivência de abelhas operárias *Apis mellifera*, usando o macerado floral *in vitro*, com *Lantana câmara* (PEREIRA, 2005), *Crotalaria micans* (NASCIMENTO et al., 2013), *Momordica charantia* L. (MARACAJÁ et al., 2011), *Moringa oleifera* L. (MARACAJÁ et al., 2010), *Sideroxylon obtusifolium* (GALVÃO SOBRINHO et al., 2013), *Jatropha gossypifolia* (ROCHA NETO et al., 2011), *Ipomoea asarifolia* (BARBOSA et al., 2011) indicando a existência de substâncias bioativas nos materiais. Uma forma de complementar os estudos é a associação de bioensaios que aponte o potencial de toxicológico dos materiais, com métodos simples e eficientes, como a utilização do ensaio com microcrustáceo de água salgada, *Artemia salina* Leach, que é um método simples, barato e eficiente para determinação de toxicidade aguda de extratos e substâncias (SANTOS et al., 2017).

Nesse sentido, visando à importância das abelhas como polinizadoras de uma grande variedade de espécies e pela geração de renda para os criadores na produção de mel, pólen e outros produtos, torna-se necessário realização pesquisas para preservação desses insetos. Assim objetivou-se estudar o potencial toxicológico do pólen de plantas consideradas apícolas presentes na caatinga (*Mimosa tenuiflora*, *Piptadenia stipulacea* e *Anadenanthera colubrina*) avaliando a toxicidade aguda frente à *Artemia salina*, e a toxicidade de componentes alimentares para abelhas *Apis mellifera in vitro* pelo comportamento de sobrevivência sob concentrações do pólen adicionado na dieta alimentar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância ecológica e econômica das abelhas

A *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae) é um inseto que apresenta importância socioeconômica, ambiental e agrônômica, em que sua exploração proporciona geração de renda com a produção de mel, geleia real, pólen, própolis e apitoxina. As abelhas são considerados polinizadores de várias culturas agrícolas, além disso, exercem importante papel na reprodução vegetal da flora nativa (BROMENSHENK et al., 1996; DELAPLANE; MAYER, 2005; PALAZUELOS; BALLIVIÁN, 2008).

As abelhas apresentam, além dos benefícios econômicos, grande importância na reprodução vegetal da flora nativa, na reconstituição de florestas e conservação dos remanescentes, podendo atuar também como bioindicadoras da qualidade ambiental (PALAZUELOS; BALLIVIÁN, 2008). Cooperando também para uma melhor produção agrícola, as abelhas visitam diversas outras espécies vegetais, sendo consideradas excelentes polinizadores (MALASPINA; SILVA-ZACARIN, 2006).

De acordo com Genersh (2010), as abelhas *A. mellifera* são consideradas uns dos agentes polinizadores mais importantes de culturas agrícolas contribuindo com aproximadamente 35% da polinização global de alimentos. Das 115 principais culturas praticadas pelo homem, 87 dependem de polinizadores, em sua grande maioria dependem das abelhas (KLEIN et al., 2007).

A criação de abelhas é uma atividade que se apresenta como uma alternativa viável para ocupação e geração de renda no campo. A apicultura brasileira se destaca por fatores como a grande diversidade florística, o aumento significativo na produtividade com a africanização das abelhas, e a abertura de novos mercados consumidores (HENRIQUE et al. 2008).

A atividade apícola brasileira demonstra grande crescimento, na área produtiva, na pesquisa, no desenvolvimento de novos equipamentos e manejo adequados à nova realidade, e está difundida em todas as regiões do Brasil (SABBAG; NICODEMO, 2011).

No Nordeste do Brasil a apicultura é uma atividade considerada capaz de promover o desenvolvimento regional ao mesmo tempo conserva o meio ambiente, em que, muitas oportunidades têm surgido em função dessa atividade que tem levado a ampliação significativa do número de produtores e de projetos para o desenvolvimento de tecnologias como incremento produtivo e melhoria da qualidade dos produtos das abelhas africanizadas (SANTOS; RIBEIRO, 2009).

A apicultura é atividade zootécnicas que mais cresceu no Nordeste brasileiro na década de 2000, sendo de caráter eminentemente familiar e tem se mostrado como uma boa alternativa para a diversificação das atividades rurais. Apresentando grande potencial para produção de mel orgânico, no ano de 2015 o Nordeste produziu cerca de 30% da produção nacional de mel, tendo gerado em 2016 com exportações o valor de 19,5 milhões de dólares (VIDAL, 2017).

2.2 Alimentação natural das abelhas

As abelhas possuem uma relação mútua entre as espécies vegetais, em que as plantas fornecem os seus alimentos (néctar e pólen) e outros materiais essenciais a dieta destes insetos e em troca recebem os serviços de polinização (KEVAN; BAKER, 1983; PROCTOR et al., 1996).

O pólen e o néctar encontrado nas flores das espécies vegetais constituem a única fonte natural de alimento para esses insetos, sendo que o pólen uma concentrada fonte proteica e o néctar importante fornecedor de energia, contendo sacarose, frutose e glicose. A ausência desses alimentos afeta o peso das larvas, pupas e adultos recém-emergidos nos enxames (ALMEIDA et al., 2003).

O néctar é a matéria prima utilizada pelas abelhas para a produção do mel, alimento que esses insetos obtêm a maior parte da energia de que precisam, a partir de carboidratos na forma de açúcares produzido pelas flores das plantas (PEREIRA, 2008).

Os carboidratos e proteínas são a base alimentar desses insetos, porém existe a necessidade de uma alimentação suplementar para colônias com gorduras, vitaminas e minerais adicionais (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010).

2.2.1 O pólen na alimentação das abelhas

O pólen é a estrutura contendo os gametas masculinos da flor, produzido pelo órgão reprodutor da planta na antera. Os grãos de pólen são coletados pelas abelhas e, através da saliva, os grãos são umedecidos e aglutinados para serem transportados até a colmeia (FERNANDES, 2013). O pólen é alimento fundamental para a nutrição das abelhas *A. mellifera*, pois fornece recurso de proteína principalmente para larvas e adultos, com a ausência de pólen na colmeia, não ocorre a produção geleia real, alimento da rainha, assim promovendo uma redução na sua postura, que conseqüentemente irá resultar na diminuição ou no desaparecimento do enxame (ZERBO et al., 2001).

O pólen é um importante elemento na polinização das plantas superiores, mais também é utilizado como alimento pelas abelhas, colhido durante suas visitas às flores aderindo-se aos finos pelos que recobrem o corpo das abelhas (VIDAL et al, 2006).

O pólen é um alimento indispensável para as abelhas, pois é o suprimento de proteínas, sais minerais, gorduras e substâncias biológicas especiais utilizadas para o desenvolvimento e sobrevivência dos enxames. O pólen é coletado e estocado nos alvéolos e a partir de processos envolvendo a ação de enzimas presentes na saliva desses insetos recebe o nome de pão das abelhas (BRODSCHNEIDER; CRAILSHEIM, 2010; MARCHINI et al., 2005; ZWOFLER, 1982).

2.3 Potencial de toxicidade de alimento para abelhas

As abelhas apresentam grande importância como polinizadores de diversas espécies vegetais, porém muitas plantas que atraem esses agentes produzem compostos tóxicos que podem afetar a sobrevivência desses insetos (ROTHER et al.; 2009). Elas necessitam da florada para a obtenção de alimento, manutenção e produção dos exames, entretanto, algumas plantas apresentam perigo para as abelhas. Em algumas regiões, certas espécies vegetais oferecem toxicidade que podem causar a morte das crias (larvas) e abelhas adultas (PEREIRA et al., 2004).

As plantas, com a evolução, apresentam diversas estratégias de autoproteção e defesas, dentre estas, a produção de substâncias químicas denominadas metabólitos secundários. Diferentemente dos metabólitos primários, os quais exercem função essencial para a manutenção da vida dos vegetais, os metabólitos secundários atuam em defesa das plantas (BRANDÃO et al., 2010; FUNASAKI, 2006; COOPER-DRIVER; BHATTACHARYA, 1998).

Durante forrageamento, as abelhas estão susceptíveis a toxidez em decorrência da produção de compostos secundários presentes em pólen, néctar floral, néctar extrafloral e, também, nas secreções de homópteros nas plantas visitadas (ALVES, 2010).

Segundo Lapa et al. (2002) existem várias espécies de plantas que contêm compostos secundários em néctar e pólen podendo ser tóxicas para os agentes polinizadores, incluindo as abelhas, essas plantas são capazes de produzir diferentes substâncias tóxicas em grandes quantidades, aparentemente para sua defesa contra vírus, bactérias, fungos e animais predadores.

Os impactos causados pela coleta de substâncias eventualmente tóxicas para as crias das abelhas proporciona o aumento da mortalidade de insetos imaturos, consequentemente levando a diminuição da colônia (STEEN, 2001).

Segundo Cintra et al. (2005), em trabalho de revisão referente ao estudo das plantas tóxicas para abelhas, relacionou as principais plantas citadas como tóxicas por autores brasileiros; *Sphatodea campanulata* (espatodea), *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* (barbatimão) e *Dimorphandra mollis* (faveiro). De acordo com Del-Lama e Peruquetti (2006) a mortalidade de 20 espécies de abelhas ao visitarem as inflorescências de *Caesalpinia peltophoroides* (sibipiruna) e relacionaram essa mortalidade à presença de um composto tóxico no néctar.

A possibilidade de substâncias como o pólen e o néctar serem tóxicos para as abelhas pode ser explicada pelos fatores de caráter natural ou antrópico como mudanças climáticas, processo evolutivo, e introdução de espécies vegetais geneticamente modificadas (CINTRA et al., 2005).

2.3.1 Métodos de avaliação de toxicidade

A toxicologia avalia os efeitos prejudiciais das substâncias ao organismo vivo, analisando a resposta negativa ao nível bioquímico, celular e molecular, estabelecendo condições seguras de exposição a estes agentes (KLAASSEN; WATKINS, 2012).

Os testes de toxicidade são elaborados com os objetivos de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias. De acordo com a ANVISA (2013), os ensaios de toxicidade aguda são utilizados na avaliação da toxicidade produzida por substâncias teste quando administradas em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 h.

Dentre os métodos de análises, encontra-se a toxicidade sobre *Artemia salina* Leach, que é um microcrustáceo de água salgada comumente usada como alimento para peixes, sendo muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral, é bioensaio de letalidade de fácil execução, rapidez e baixo custo favorecendo a sua utilização rotineira em diversos estudos (LUNA et al., 2005).

O bioensaio com *A. salina* utiliza a CL₅₀ (Concentração letal 50%) como parâmetro de avaliação da atividade biológica. A alta toxicidade de um produto frente *A. salina* tenha correlação com ensaio de toxicidade *in vivo*. Este teste pode ser considerado um bom teste para prever toxicidade oral de compostos bioativos, assim como, pode indicar provável

potencial para atividade biológica, inseticida, antitumoral, antimicrobiana e anticancerígena (ROSA et al, 2016; MEYER, 1982).

A *Artemia salina* é um tipo representativo de microcrustáceo (zooplâncton) que é usado para alimentar peixes larvais em aquicultores. Também foi reconhecido como um modelo biológico adequado em ecotoxicologia (KUMAR et al., 2017; NUNES et al., 2006) e nanoecotoxicologia (LIBRALATO, 2014), avaliando os produtos vegetais como fonte de novos compostos bioativos e mostram a importância dos bioensaios preliminares como rastreio de sua potencialidade biológica (LEITE et al., 2009).

Para as abelhas, os testes para aferir o potencial tóxico crônico ou agudo de pesticidas utilizados nas culturas agrícolas e contaminantes ambientais (HEARD et al., 2017; ARENA; SGOLASTRA, 2014; THOMPSON et al., 2014) e alimentos naturais ou dietas artificiais (STEIJVEN et al., 2016) são realizados *in vitro* e/ou *in vivo* (STANLEY et al., 2015) em insetos adultos e larvas (WEEKS et al., 2018; DAI et al., 2017) em todo o mundo.

Os teste de toxicidade realizados em *Apis mellifera* contribuem nas discussões sobre a proteção desses insetos e levanta hipóteses para esclarecimento ao colapso de colônias de abelhas que é um problema mundial sanitário e ecológico, que se trata do desaparecimento inexplicável de abelhas adultas, que causa a redução da força das colônias e a mortalidade intensa sem quaisquer distúrbios patológicos evidentes das abelhas (HIGES et al., 2009).

2.4 Flora Apícola

O potencial de produção apícola de uma região é determinado pelo revestimento florístico (VIDAL et al., 2008). O conjunto de plantas fornecedoras de pólen e néctar para as abelhas é chamado flora apícola. Nessa, as plantas que suprem as necessidades das abelhas podem ser classificar em três grupos, relacionados com a oferta de recursos, em que, as plantas produtoras de néctar são denominadas nectaríferas, as plantas poliníferas são as que produzem pólen e plantas poliníferas-nectaríferas são as que produzem tanto néctar, como pólen (BARTH, 2005).

O conhecimento da flora apícola de uma região é fundamental para a criação racional de abelha, em que esses levantamentos que fornecem informações sobre as espécies apícolas da região próxima ao apiário contribuem para um melhor manejo das colmeias (LOPES et al., 2016). Esse conhecimento também constitui como uma ferramenta essencial para que o apicultor otimize a sua produção, identificando o período de floração entre as espécies, entre os indivíduos da mesma espécie, e entre as regiões, e que se adaptam de acordo com as condições climáticas locais (ALEIXO et al., 2014).

A flora, na apicultura determina e influencia características nutricionais e organolépticas dos produtos apícolas, como mel, pólen e própolis. (INSUASTY-SANTACRUZ et al., 2016).

A variedade de plantas consideradas apícolas depende das espécies nativas e exóticas locais. No Nordeste a flora apícola é constituída pelos três estratos vegetais, herbáceo, arbustivo e arbóreo, sendo que a importância relativa de cada estrato varia na região em função da densidade e composição florística (PEREIRA et al., 2004). Vidal et al. (2008) pesquisado a flora da região do Recôncavo Sul da Bahia identificam 39 espécies vegetais apícolas visitadas por *Apis mellifera*, nas quais o maior fluxo nectarífero ocorre nos períodos de julho a setembro e outubro a dezembro. No estado do Piauí, Lopes et al. (2016) levantaram 46 espécies potencialmente apícolas, sendo Fabaceae a família com maior riqueza de espécies e com pico de floração entre os meses de março a maio.

Analisando amostras mel em todo estado de Sergipe, observou-se riqueza de tipos de pólen encontrados, mostrando a grande diversidade dos recursos florais utilizados por *Apis mellifera* na região, entre as famílias registradas a Fabaceae também é a mais importante para a apicultura da região. A presença de tipos de pólen relacionados à endemia espécies da vegetação da Caatinga mostram que as abelhas usam vegetação nativa como recursos florais, corroborando a importância desses tipos de pólen como marcadores geográficos para amostras de mel do Semiárido do Brasil (SILVA; SANTOS, 2014).

2.4.1 *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret. (Jurema preta)

A *Mimosa tenuiflora* popularmente conhecida como Jurema preta, pertence à família Fabaceae/Leguminosae, subfamília Mimosoideae. Uma árvore com cerca de 5-7 metros de altura, com acúleos esparsos, caule ereto ou levemente inclinado, casca de cor castanha muito escura, às vezes acinzentada, grosseira, rugosa, fendida longitudinalmente, entrecasca vermelho-escura. Folhas compostas, alternas, bipinadas, com 4-7 pares de pinas de 2-4 cm de comprimento. Suas flores são pequenas de cor clara, dispostas em espigas isoladas de 4-8 cm de comprimento. O fruto é uma vagem pequena, tardiamente deiscente, de 2,5 a 5 cm de comprimento, de casca muito fina e quebradiça quando maduro (MAIA, 2004).

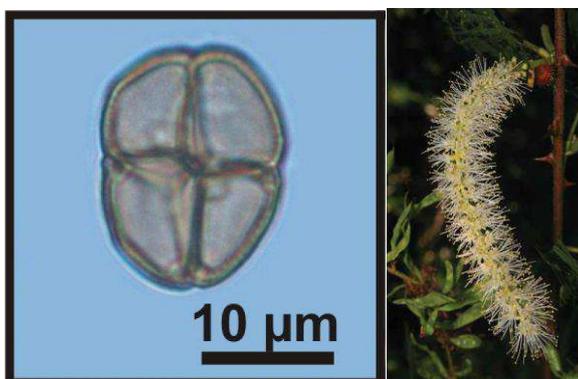
A jurema-preta além de ser uma planta melífera, em que as flores são ótimas fontes de pólen, também é considerada como uma boa opção para o Semiárido nordestino pois, apresentam adaptação às condições climáticas adversas, apresenta alta capacidade de rebrota após o pastejo (COSTA et al., 2002).

Os grãos de pólen *M. tenuiflora* apresentam características morfométricas com unidade dispersão tétrade plano-elípticas decussada. Os grãos de pólen são 4-porados, exina muito delgada ($<1\mu\text{m}$) com camadas não diferenciadas, com superfície irregularmente areolada de aparência escabrada com diâmetro maior de $20\mu\text{m}$ $13,8\mu\text{m}$ como menor diâmetro (Figura 1) (BURIL et al., 2010; LIMA et al., 2008).

Reis (2009), avaliando a flora de manutenção para *Apis mellifera* no estado do Ceará, observou que a jurema-preta foi à espécie que teve maior participação na dieta proteica das abelhas no período correspondente aos segundo semestre do ano (julho a setembro). Lopes et al., (2016) e Aleixo et al., (2014) estudando a flora apícola no estado do Piauí apontaram a *M. tenuiflora* como importante espécie apícola no fornecimento de pólen e néctar. Com floração variável pela localidade e condição climática.

Materiais florais de espécies do gênero *Mimosa* foram objeto de estudos de pesquisa com alimentação de abelhas aferindo possível potencial toxicológico (MELO et al., 2011; MESQUITA et al., 2008) e também espécies que não apresentaram risco para esses insetos nas doses utilizadas (SILVA et al., 2010).

Figura 1. Fotomicrografia do pólen de *Mimosa tenuiflora* (A); Flor de *M. tenuiflora* (B).



Fonte: RCPol (2018)

2.4.2 *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke.

Piptadenia stipulacea (Benth.) Ducke é uma espécie da família Fabaceae, conhecida popularmente como jurema branca, que ocorre na caatinga. A árvore é pequena, com cerca de 2-4 m de altura, casca castanho-claro, fortemente armada por acúleos vigorosos. Seu fruto é uma vagem de cor castanho-pálido, com 8-12 cm de comprimento, com superfície ondulada nas áreas onde ficam as sementes. Contém de 2 a 12 sementes ovais pequenas, por vagem, de cor marrom (BRAGA, 1976). Segundo Pereira et al. (2001), o comportamento de *P.*

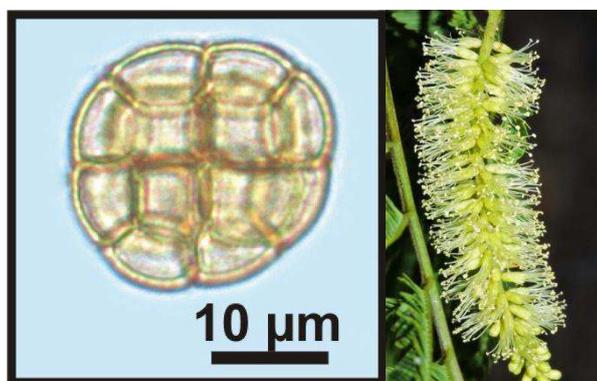
stipulacea reflete nitidamente os efeitos das perturbações a que uma vegetação foi submetida, mostrando-se bastante tolerante a elevados níveis de perturbação.

A *P. stipulacea* perde as folhas na estação seca. A floração ocorre na estação chuvosa, mas pode também ser encontrada na estação seca, seguida pela frutificação que se estende de abril a agosto (COSTA et al., 2002).

Os grãos são políades de tamanho pequeno, acalimadas, com grãos de pólen organizados em seis periféricos e seis (3+3) centrais, com forma variável de esférica a elíptica; cada grão é 4-porados, poros recobertos por membrana finamente granulada, exina, psilada, é na verdade areolada, com aréolas irregularmente fusionadas, com moformetria de unidade polínicas com diâmetro maior de 26 μm e menor de 16,2 μm (Figura 2) (BURIL et al., 2010).

Demonstrando a importância apícola da *P. stipulacea*, Silva e Santos (2014) verificaram o pólen dessa espécie em amostras de mel em algumas regiões no estado de Sergipe. Porém em altas doses, materiais florais da espécie *P. stipulacea*, foi definidos como tóxicos para a alimentação de abelhas polinizadoras no Semiárido brasileiro (MESQUITA et al., 2010).

Figura 2. Fotomicrografia do pólen de *Piptadenia stipulacea* (A); Flor de *P. stipulacea* (B).



Fonte: RCPol (2018)

2.4.3 *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenam. (Angico)

O Angico (*Anadenanthera colubrina*) árvore caducifolia pertencente a família Fabaceae e subfamília Mimosoideae apresenta copa aberta e irregular, de 5 a 15 metro de altura, com tronco quase cilíndrico de 30 a 50 cm de diâmetro, revestido por casca rugosa e provida de espinhos esparsos. Folhas compostas bipinadas, de 4 a 6 mm de comprimento. Flores de cor branca, dispostas em inflorescência do tipo panículas de espigas globosas. Os

frutos são vargens achatadas, de cor marrom, de 10 a 20 cm de comprimento, contendo 5 a 10 sementes lisas e escuras (LORENZI, 2002).

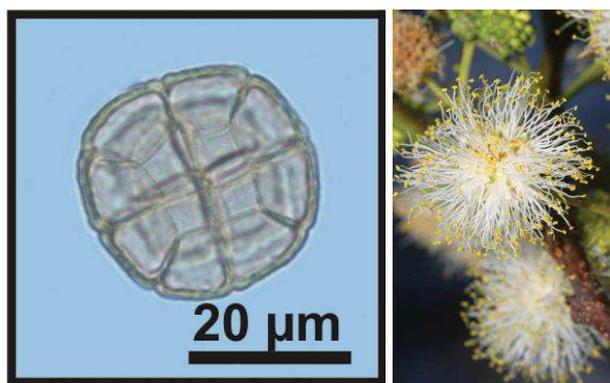
O angico possui crescimento rápido, pode ser utilizado para fortalecer a criação de abelhas, em áreas de reflorestamento e também em áreas urbanas. Apresenta aptidão no fornecimento de alimentação proteica, tendo como período de floração de outubro a dezembro (MAIA-SILVA et al., 2012).

O pólen de *A. colubrina* é caracterizado como políades plano-circulares, com oito grãos centrais (quatro em cada plano) margeados por uma crista circular, com exina areolada e políades de tamanho médio, com diâmetro maior de 39,1 μm e menor de 33,3 μm (Figura 3) (BURIL et al., 2010).

No estado do Piauí a *A. colubrina* foi identificada como planta apícola polinífera-nectarífera com floração registrada no mês de setembro (ALEIXO et al., 2014). Méis de *Apis mellifera* com predominância da florada de angico foram colhidos na região da Chapada do Araripe, localizada no sul do Estado do Ceará (SOUSA et al., 2016).

Analisando a composição botânica do pólen apícola colhido pela *A. mellifera* no estado da Bahia, Novais et al. (2009) encontraram pólen *A. colubrina* em amostras coletadas nos meses de novembro e dezembro.

Figura 3. Fotomicrografia do pólen de *Anadenanthera colubrina* (A); Flor de *A. colubrina* (B)



Fonte: RCPol (2018)

3. MATERIAL E MÉTODOS

O pólen foi coletado das inflorescências de plantas *Mimosa tenuiflora* (6°35'06.8"S; 38°30'50.9"W), *Piptadenia stipulacea* (6°35'18.1"S; 38°31'15.1"W), *Anadenanthera colubrinano* (6°35'16.2"S; 38°31'14.1"W) nos meses de janeiro (Jurema branca e Jurema preta) e agosto (Angico) período em que comumente ocorre o florescimento das plantas na região do sertão da Paraíba.

No Laboratório de Nutrição Animal do Centro e Ciências e Tecnologia Agroalimentar (CCTA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), realizaram-se os procedimentos para a retirada de impurezas do material coletado, utilizando peneiras de análise granulométrica em agitador eletromagnético.

As características físico-químicas do material foram analisadas no Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), onde o teor de fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2006), utilizando os ácidos, tânico e gálico, como padrões.

3.1 Bioensaio de citotoxicidade com *Artemia salina*

O Bioensaio foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Grãos e Cereais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus Pombal, Paraíba. Na determinação da toxicidade aguda dos pólenes em *Artemia salina* foi utilizando a metodologia baseada em Meyer et al. (1982).

Em um recipiente foram adicionados 500 mL de solução de água do mar. O recipiente foi disposto em uma incubadora iluminada por lâmpada fluorescente. No qual foram adicionados 0,2 mg de cistos de *Artemia salina*, mantendo a água em agitação e aeração constante, com auxílio de um compressor de aeração para aquário. A incubação foi feita durante o período de 48 horas.

Na preparação dos extratos com os pólenes pesou-se 0,1 g da amostra e adicionando 50 ml de água destilada, após agitação e descanso de 30 minutos a solução foi filtrada em papel filme.

Após o período de incubação, os organismos-testes (náuplios de *Artemia*) foram separados em grupos de 10 utilizando-se tubos de ensaio, que foram preparados com a solução contendo 5000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de água do mar e diferentes concentrações do extrato de pólen (31,25; 62,5; 125; 250; 500; 750; 1000; 1250; 1500 e 3000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). As concentrações foram distribuídas com base o proposto por Veiga et al., (1989). Além disso teve um controle

negativo (branco), em que foram adicionados 10 náuplios em $5000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de água do mar. Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração.

Após 24 horas de exposição, foi feita a contagem dos náuplios vivos e mortos, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observados próximos à fonte luminosa.

Os resultados foram tratados e os gráficos com percentual de mortalidade obtidos através do software GraphPad Prism[®] 7. Os valores de CL_{50} foram estimados a partir da regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos compostos testados.

Na classificação do nível de toxicidade foi considerado toxicidade forte para compostos com valores de CL_{50} de até $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, toxicidade moderada para CL_{50} entre 100 e $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, toxicidade baixa para CL_{50} entre $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, e não tóxico para valores acima de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (NGUTA et al., 2011).

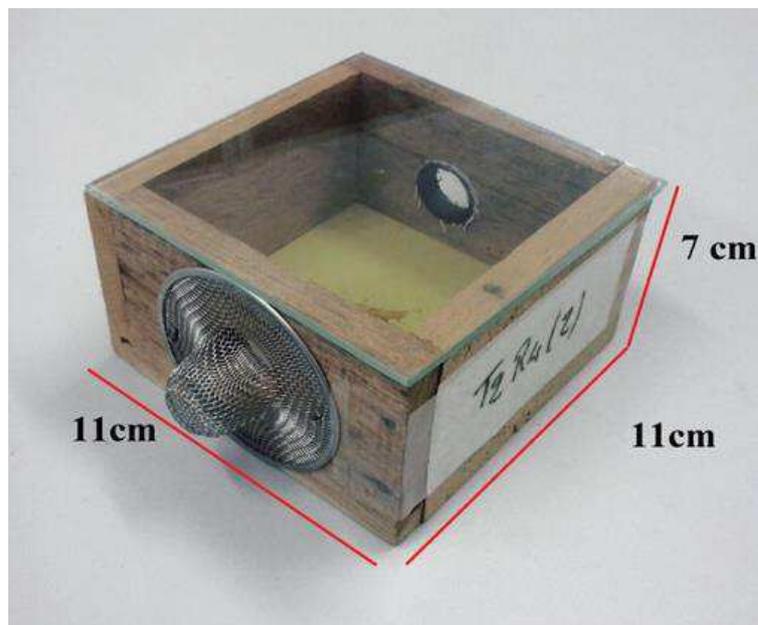
3.2 Bioensaio de toxicidade com *Apis mellifera*

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Abelha do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal.

As abelhas operárias recém emergidas de *Apis mellifera* foram capturadas de favo de crias, selecionados de colmeias provenientes do apiário da fazenda experimental da Universidade Federal de Campina Grande situada na cidade de São Domingos, Paraíba. Os favos foram conduzidos ao Laboratório de Abelhas em um núcleo transporte e durante 24 horas acompanhou-se o comportamento das abelhas recém-emergidas dos favos selecionados, sendo capturadas em tubos de ensaio formando grupos com 20 abelhas.

As abelhas capturadas foram mantidas em gaiolas de madeira, com 11 cm de comprimento, 11 cm de largura e 7 cm de altura, a parte superior fechada por uma lâmina de vidro para facilitar a observação das abelhas. Nas laterais as gaiolas apresentavam orifícios simétricos de aproximadamente uma polegada de diâmetro, um vedado por uma tela de nylon para propiciar a entrada de ar e na outra lateral por uma estrutura metálica em forma de cone utilizada para proporcionar maior aeração na finalidade de melhor conforto no confinamento das abelhas (Figura 4).

Figura 4. Gaiolas de madeiras utilizadas no bioensaio para toxicidade de alimentos para abelhas



Fonte: Autor (2017)

Durante a realização dos bioensaios, o suprimento de água e alimento foi realizado em recipientes plásticos de 2,8 cm de diâmetro e capacidade de 10 ml, sendo a água embebida em algodão para evitar mortes dos insetos por afogamento com fornecimento diário. A base alimentar fornecida foi uma mistura de açúcar de confeitaria e mel (3:1), que foram adicionadas as concentrações de pólen (0,25%, 0,50%, 0,75% e 1,00%), em relação ao peso do alimento base.

O trabalho foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, diferentes concentrações de pólen na dieta alimentar das abelhas e o grupo controle apenas com fornecimento da base alimentar. Foram utilizadas 4 repetições com 20 abelhas recém-emergidas (BETIOLI; CHAUD-NETTO, 2001). Os experimentos foram conduzidos em uma sala com controle das condições de temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 5\%$.

O levantamento da quantidade de abelhas mortas foi registrado diariamente, retirando-as cuidadosamente para evitar a fuga das demais. A análise de sobrevivência das abelhas foi realizada usando o método de Kaplan-Meier com a obtenção de Curvas de Sobrevivência através do software GraphPad Prism[®] 7 com aplicação do teste não paramétrico Log-Rank Test na comparação das curvas (MOTULSKY, 1995).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pólen das espécies *M.tenuiflora*, *P. stipulacea* e *A. colubrinano* foram avaliadas quanto ao teor de fenólicos totais e tanino (Tabela 1). Foi observado que o pólen da *A. colubrinano* apresentou maior teor de fenólicos totais quando comparado as demais espécies. Já a *M.tenuiflora* apresentou maior concentração de taninos, seguido da *A. colubrinano* e *P. stipulacea*.

As substâncias, produtos dos metabolismo secundário das plantas, são conhecidas principalmente como “princípios ativos” e possuem interessantes propriedades biológicas. Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico e tendem a se solubilizar em água e podem estar ligados a açúcares. São compostos instáveis, facilmente oxidáveis em pH alcalino (ANGELO; JORGE, 2007).

Tabela 1. Fenólicos totais (\pm desvio padrão) do pólen de plantas apícolas da Caatinga.

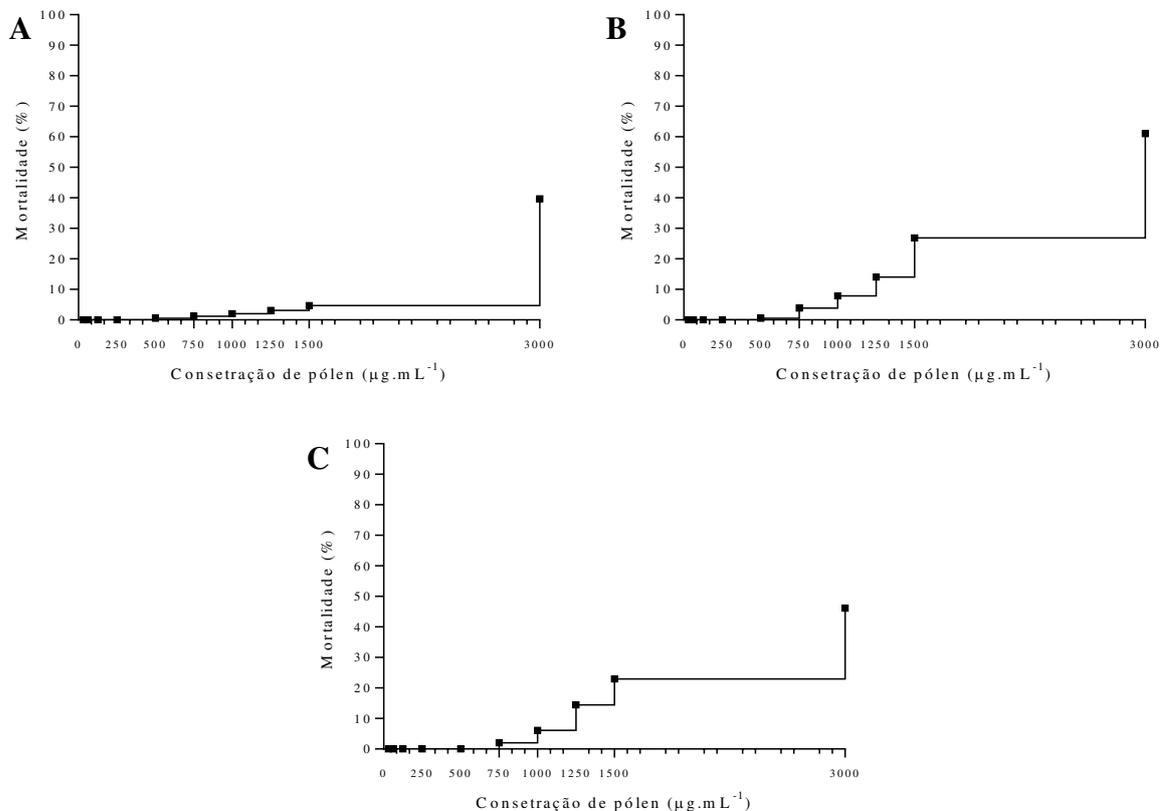
	Fenólicos (ácido gálico) (mg/100g)	Tanino (mg/100g)
<i>M. tenuiflora</i>	13,65 \pm 0,09	11,09 \pm 0,001
<i>P. stipulacea</i>	16,61 \pm 0,11	9,82 \pm 0,001
<i>A. colubrinano</i>	20,78 \pm 0,09	10,4 \pm 0,001

A avaliação de citotoxicidade com o microcrustáceo da ordem Anostraca (*Artemia salina*) utilizado como bioindicador da ação tóxica de várias substâncias naturais, não demonstrou toxicidade para as amostras de pólenes de plantas apícolas (Figura 2).

Observa-se que todos os pólen testados não são tóxicos, pois, a maior mortalidade ocorreu na concentração de 3000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, com respostas entre a faixa de 40 à 60% de indivíduos mortos. As doses até 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ apresentaram baixa taxa de mortalidade, com percentual máximo de 25% de morte dos náuplios. Avaliando a toxicidade de extratos de plantas medicinais em *A. salina*, Pereira et al. (2015) classificaram com não tóxica as plantas com resultados de mortalidade abaixo de 50%, tendo como dose máxima 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Na determinação da dose letal para 50% da população (CL_{50}) a avaliação com o pólen de *P. stipulacea* apresentou CL_{50} de 2560,81 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para *M. tenuiflora* e *A. colubrina* as concentrações letal foram estimadas por regressão linear com valores de 3857,63 e 3130,57 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ acima de 95% de confiança respectivamente. Esses altos valores de CL_{50} , consequentemente indicando baixa toxicidade dos pólenes avaliados, pode está relacionado aos baixos valores encontrados de fenólicos totais nas amostras.

Figura 5. Porcentagem de mortalidade de *Artemia salina* em relação ao aumento de concentração do pólen de *M. tenuiflora* (A); *P. stipulacea* (B); e *A. colubrina* (C).



Avaliando a toxicidade de partes de *Croton heliotropiifolius*, importante planta apícola da Região Nordeste, Silva et al. (2017) verificaram alta toxicidade do extrato das flores sob a *A. Salina*, com CL₅₀ de 42,61 µg.mL⁻¹, associando essa resposta à presença de diterpenóides em plantas do gênero *Croton*.

Os bioensaios de toxicidade de componentes alimentares para abelhas *in vitro* apresenta relevante importância para o controle da qualidade do pasto apícola das propriedades com criação desses insetos e na formulação de dietas artificiais para suplementação dos enxames.

Avaliando o pólen de *Mimosa tenuiflora* observa-se que não houve diferença significativa na comparação do tratamento controle com cada dose testada. Esse resultado demonstra que o pólen não apresenta potencial tóxico para as abelhas *A. mellifera* (Tabela 1; Figura 3). Corroborando, Silva et al. (2010) analisando a toxicidade do pólen de *M. tenuiflora* com dose na dose máxima de 10% concluíram que a ingestão por *A. mellifera* L. não promover efeito tóxico. Melo et al. (2011) avaliando o macerado de flores de *Mimosa hostilis*, também denominada popularmente como jurema preta, na alimentação de *A. mellifera*, verificaram potencial tóxica com doses semelhantes a presente pesquisa.

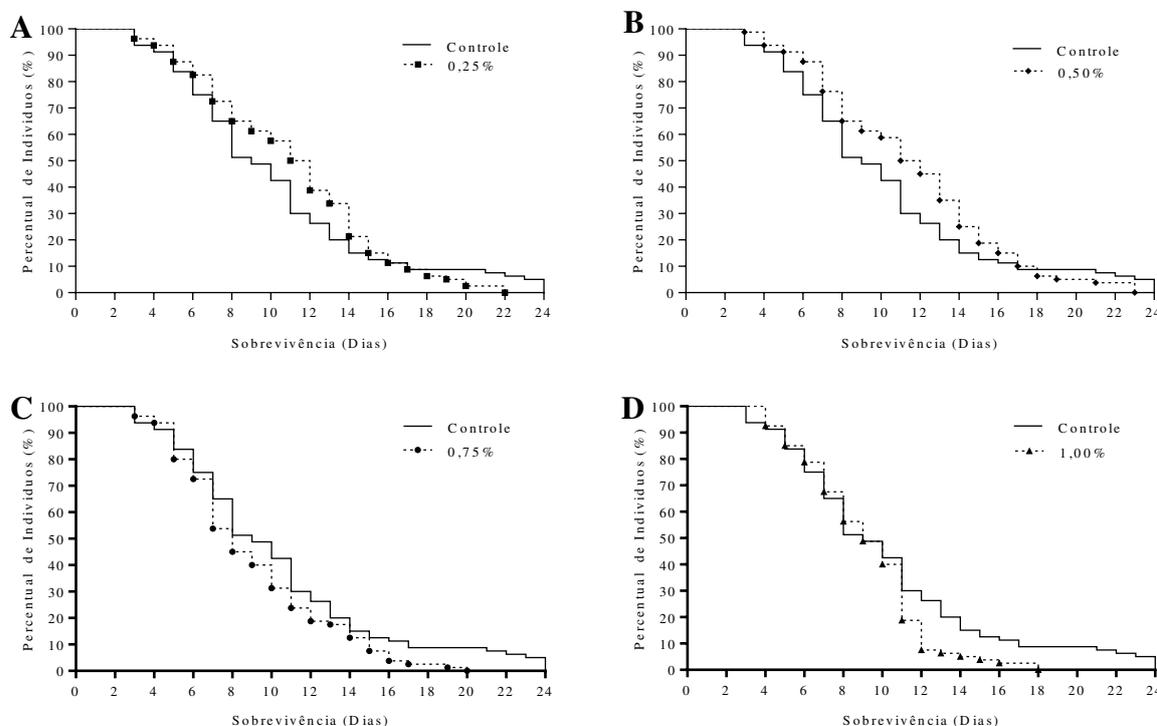
Tabela 2. Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de *M. tenuiflora* adicionado na dieta alimentar de *A. mellifera* (0,25%; 0,5%, 0,75%; 1,0%).

Comparação	GL	Qui-quadrada	P-valor	Mediana (dias)	Mínimo (dias)	Máximo (dias)
Controle	-	-	-	9	3	24
0,25%	1	0,512	0,4742 ^{ns}	11,5	3	22
0,50%	1	1,455	0,2277 ^{ns}	11,5	3	23
0,75%	1	3,108	0,0779 ^{ns}	8	3	20
1,00%	1	3,319	0,0685 ^{ns}	9	4	18

ns; *, **: não significativo; significativo a $p < 0,05$ e $p < 0,01$, pelo Log-Rank Test.

Observa-se na Figura 6 que a mortalidade de 50% dos indivíduos foi registrada no período de 8 a 11 dias variando conforme as concentrações. Verifica-se também que valor máximo em dias de sobrevivência dos insetos foi de 24 dias (tratamento controle), sendo que na maior dose utilizada (1,0%) a sobrevivência máxima registrada foi de 18 dias, porém não houve diferença significativa no comportamento das curvas de sobrevivências da população nas situações comparadas (Figura 3D).

Figura 6. Curvas de sobrevivência do grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de *M. tenuiflora* adicionado na dieta alimentar de *A. mellifera*. (A) 0,25%; (B) 0,5%; (C) 0,75%; (D) 1,00%.



A. M. tenuiflora é fundamental para a atividade apícola em áreas de caatinga, sendo recomendado a sua conservação e multiplicação nos locais com criação de abelhas (SILVA et

al., 2015). É uma espécie apontada como atrativa para as *Apis mellifera* durante seu forrageamento, embora também por outras abelhas sociais e solitárias (TROVÃO et al., 2009; SILVA-FILHO et al., 2010; MAIA-SILVA et al., 2012).

A *Piptadenia stipulacea* é uma importante planta apícola da região semiárida, principalmente no fornecimento de pólen. Na avaliação da influência do pólen na sobrevivência de abelhas verifica-se que a partir da dose de 1,0% incorporada na dieta alimentar ocorreu diferença significativa ($P < 0,05$) (Tabela 3).

A mortalidade de 100% dos insetos foi em 21 dias na maioria das doses, mesmo quanto utilizou-se 1,0% de pólen, contudo, nessa dose a mediana e o valor mínimo de sobrevivência destacam-se como os menores valores observados (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de *P. stipulacea* adicionado na dieta alimentar de *A. mellifera* (0,25%; 0,5%, 0,75%; 1,0%).

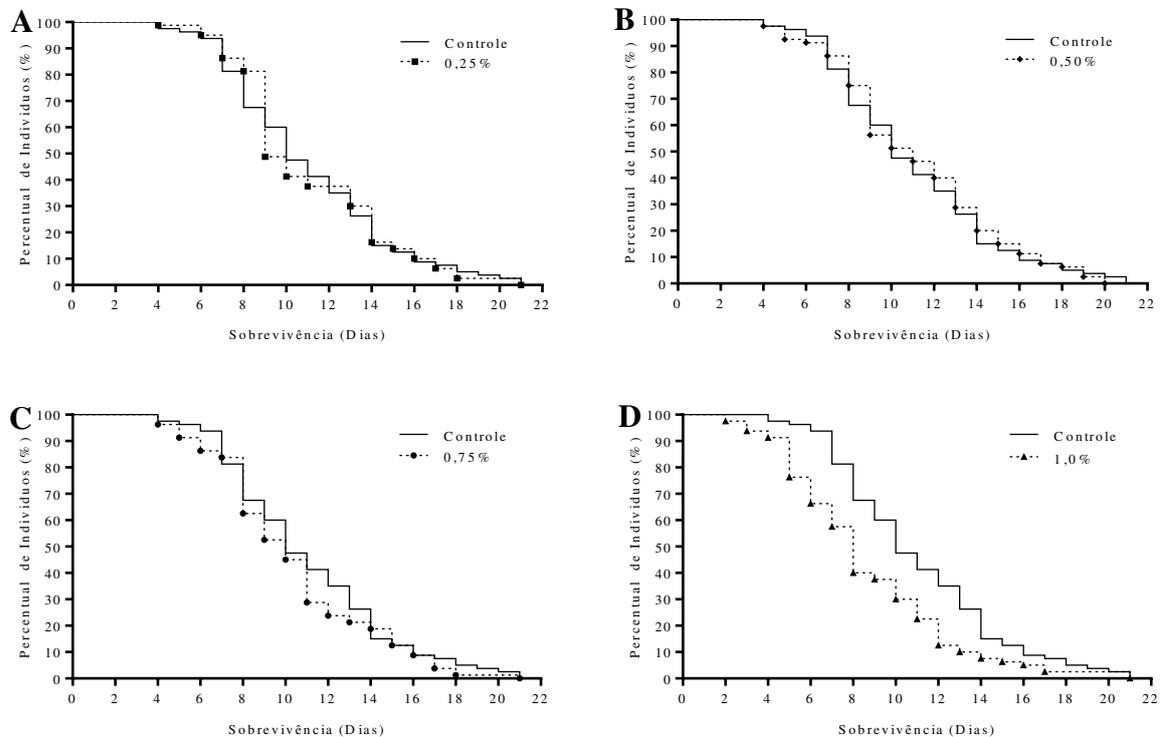
Comparação	GL	Qui-quadrada	P-valor	Mediana (dias)	Mínimo (dias)	Máximo (dias)
Controle	-	-	-	10	4	21
0,25%	1	0,0564	0,8121 ^{ns}	9	4	21
0,50%	1	0,0927	0,7607 ^{ns}	11	4	20
0,75%	1	0,7087	0,3999 ^{ns}	10	4	21
1,00%	1	9,986	0,0016*	8	2	21

ns; *, **: não significativo; significativo a $p < 0,05$ e $p < 0,01$, pelo Log-Rank Test.

Observa-se na Figura 4 o comportamento das curvas de sobrevivências de *Apis mellifera*, em que com aumento das doses, verifica-se em avaliação visual, crescente diferença entre as curvas avaliadas. Houve diferença significativa apenas com a utilização da maior dose (1,0%). Para essa concentração, observa-se um desempenho negativo desde os primeiros dias de avaliação pelo comportamento do percentual de sobrevivência, em que, com 13 dias apresenta-se apenas com 10% dos insetos vivos (Figura 4D).

Estudando a toxicidade do pólen de plantas visitadas por *A. mellifera* na região Semiárida (*Azadirachta indica*, *Mimosa tenuiflora* e *Piptadenia stipulacea*) em condições de laboratório, Mesquita et al. (2010) observaram que a ingestão dos pólenes de *P. stipulacea* e *A. indica* reduziu a curva de sobrevivência das abelhas, enquanto que para o pólen de *M. tenuiflora* não apresentou efeito tóxico em todas as concentrações utilizadas.

Figura 7. Curvas de sobrevivência do grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de *P. stipulacea* adicionado na dieta alimentar de *A. mellifera*. (A) 0,25%; (B) 0,5%; (C) 0,75%; (D) 1,00%.



Na avaliação *in vitro* do pólen de *A. colubrina* na alimentação das *Apis mellifera*, observa-se na comparação entre as curvas de sobrevivência das abelhas operárias do tratamento controle e de cada grupo experimental, diferença significativa em todas as situações pelo Log-Rank Test, indicando potencial tóxico do material testado.

Tabela 4. Comparação das curvas de sobrevivência entre o grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de *A. colubrina* adicionado na dieta alimentar de *A. mellifera* (0,25%; 0,5%, 0,75%; 1,0%).

Comparação	GL	Qui-quadrada	P-valor	Mediana (dias)	Mínimo (dias)	Máximo (dias)
Controle	-	-	-	10	4	20
0,25%	1	14,49	0,0001**	8,5	3	19
0,50%	1	7,405	0,0065**	9	5	16
0,75%	1	4,647	0,0311*	10	3	18
1,00%	1	12,03	0,0005**	9	4	18

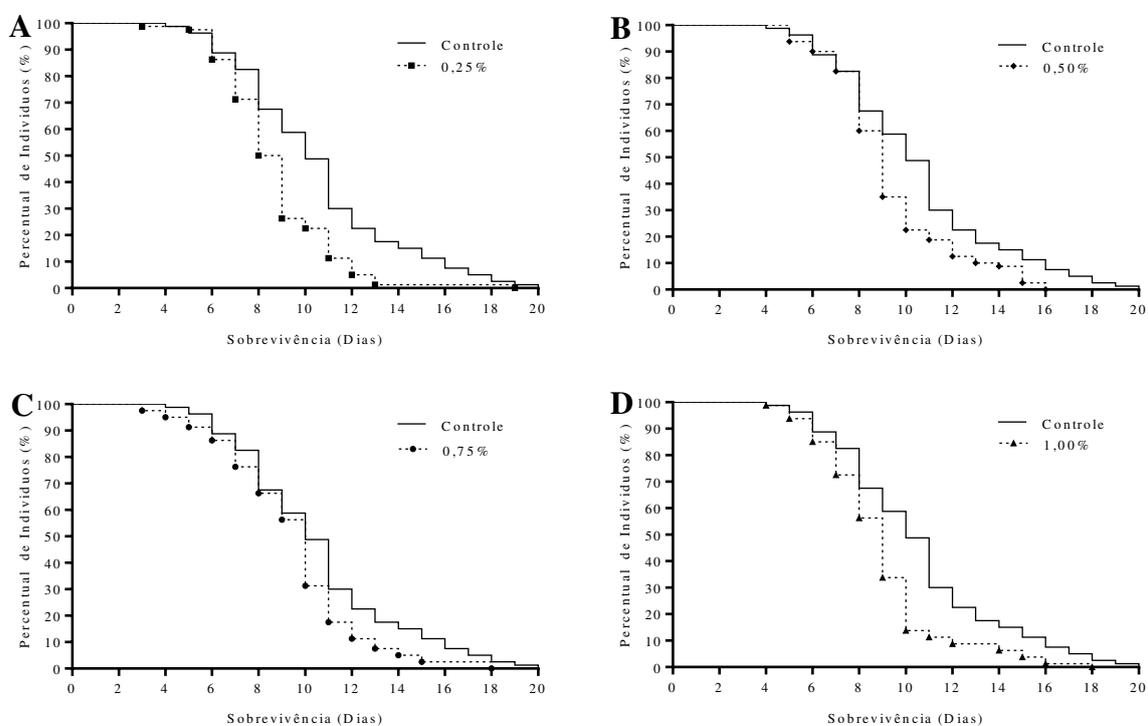
ns; *, **: não significativo; significativo a $p < 0,05$ e $p < 0,01$, pelo Log-Rank Test.

Na análise das curvas de sobrevivência verifica-se que o efeito tóxico das concentrações de pólen não foi imediato, ou seja, não se manifestando nos primeiros dias observados, verifica-se que a redução da sobrevivência das operárias em todos os tratamentos com concentrações crescentes de pólen acentuou-se aproximadamente a partir do 8º dia

(Figura 8). Em análise visual, as diferenças apresentadas demonstram um leve efeito tóxico tendo em vista o pequeno distanciamento das curvas e a morte total dos insetos que apresentaram pouca variação (Figura 8; Tabela 4).

No percentual de sobrevivência observa-se que nos tratamentos com as concentrações do pólen de *A. colubrina*, a mortalidade de 50% dos insetos foi registrada em média ao 8º dia de análise, enquanto que para o tratamento controle, esse resultado foi registrado no 11º dia (Figura 8).

Figura 8. Curvas de sobrevivência do grupo controle e os tratamentos com doses crescentes de pólen de *A. colubrina* adicionado na dieta alimentar de *A. mellifera*. (A) 0,25%; (B) 0,5%; (C) 0,75%; (D) 1,00%.



Esse comportamento de redução na sobrevivência das abelhas pode está relacionado à presença substâncias ou características químicas com potencial tóxico nos componentes florais (LANA; PERUQUETTI, 2006). Observa-se na Tabela 1, que a maior quantidade de compostos fenólicos foi verificada nas amostras do pólen da *A. colubrina* utilizando o ácido gálico como padrão, porém, mesmo com essa observação não associa-se cientificamente a resposta tóxico desse material para as abelhas.

Paes et al. (2010) analisando as concentrações de taninos presentes em *A. colubrina* observaram que todas as partes vegetais, porém os menores valores foram encontrados nas

sementes, flores e ramos finos. Essa substância é apontada como a principal causa de toxicidade em abelhas (SANTORO et al., 2004).

O tanino encontrado nas flores da *A. colubrina* deve ser estudado, tendo em vista observar as quantidades que essa substância venha a causar danos aos enxames de *A. mellifera*.

5. CONCLUSÕES

O pólen de *Mimosa tenuiflora*, *Piptadenia stipulacea* e *Anadenanthera colubrina* não apresenta potencial tóxico agudo.

Para a alimentação de *Apis mellifera*, o pólen de *M. tenuiflora* não apresenta riscos de toxicidade. O pólen de *P. stipulacea* e *A. colubrina* apresentam baixo potencial tóxico na alimentação das abelhas.

O pólen das plantas da caatinga (*M. tenuiflora*, *P. stipulacea* e *A. colubrinano*) representa pouca ameaça para as abelhas (*A. mellifera*), pois, é improvável a exposição desses insetos as concentrações que podem provocar altos efeitos tóxicos.

REFERÊNCIAS

- AACC, American Association Cereal Chemists. **Métodos de Análise Aprovados**. 11. ed. São Paulo: AACC. 2010. Disponível em: <<http://methods.aaccnet.org/toc.aspx>>. Acesso em: 10/1/2018.
- ALEIXO, D. L.; ARAÚJO, W. L.; AGRA, R. S.; MARACAJÁ, P. B.; SOUSA, M. J. O. Mapeamento da flora apícola arbórea das regiões pólos do estado do Piauí. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.9, n.4, p.262-270, 2014.
- ALMEIDA, D.; MARCHINI, L. C.; SODRÉ, G. S.; D'ÁVILA, M.; ARRUDA, C. M. F. **Plantas visitadas por abelhas e polinização**: Série Produtor Rural. Piracicaba: ESALQ Divisão de Biblioteca e Documentação, 2003. 44p.
- ALVES, J. E. Néctar e pólen tóxicos para *Apis mellifera*. In: Congresso Ibero-latino Americano de Apicultura, 10. 2010, Natal. **Anais...** Natal, 2010. p. 8.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Instituto Adolfo Lutz**. v.66, n.1, p. 1-9, 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. 2. ed. Brasília: GESEF. 2013. Disponível em:<<http://bit.ly/2BU3JJW>> Acesso em: 07/02/2017.
- ARENA, M.; SGOLASTRA, F. A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. **Ecotoxicology**, v.23, p.324, 2014.
- BARBOSA, A. A. F.; LEITE, D. T.; ALMEIDA NETO, I. P.; SANTOS, D. P.; PEREIRA FILHO, R. R. Efeito tóxico de flores de *Ipomoea asarifolia* as abelhas africanizadas em condições controladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.2. p.46-49. 2011
- BARTH, O. M. Botanical resources used by *Apis mellifera* determined by pollen analysis of royal jelly in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Apicultural Research**, v.44, n.2, p.78-81, 2005.
- BETIOLI, J. V.; CHAUD-NETTO, J. Group effect on longevity of Africanized honeybee workers (*Apis mellifera* L.) maintained without queen in laboratory conditions. **Naturalia**, v.26, p.265-275, 2001.
- BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3 ed. Fortaleza: ESAM, 1976.
- BRANDÃO, M. G. L.; PAULA-SOUZA, J.; GRAEL, C. F. F.; SCALON, V.; SANTOS, A. C. P.; SALIMENHA, M. F.; MONTE-MOR, R. L. M. Biodiversidade, uso tradicional de

plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais. In: Seminário sobre a Economia Mineira, 14, 2010, Belo Horizonte. **Anais...** Cedeplar: UFMG. 2010.

BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honeybees. **Apidologie**, v.41, n.3, p.278–294, 2010.

BROMENSHEK, J. J.; B. LIGHTHART, B.; MCGRAW II, R. L.; LOESER, M. R.; BIRCH, B.; BOWMAN, P. J. Real-time monitoring of MPCA hazards to honeybees in a microbial containment flight chamber. p. 361-375. In: M. A. LEVIN; J. S. ANGLE (eds.), **Proceedings risk assess biotechnology risk assessment symposium**, Balmar: University of Maryland. 1996.

BURIL, M. T.; SANTOS, F. A. R.; ALVES, M. Diversidade polínica das Mimosoideae (Leguminosae) ocorrentes em uma área de caatinga, Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, n.1, p.53-64, 2010.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 3 ed. Fortaleza: ESAM. 1976.

CINTRA, P.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C. Plantas tóxicas para abelhas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n. 4, p. 547-551, 2005.

COOPER-DRIVER, G. A.; BHATTACHARYA, M. Role of phenolics in plant evolution. **Phytochemistry**. v.49, p.1165-1174, 1998.

COSTA, J. A. S.; Nunes, T. S.; Ferreira, A. P. L., Stradmann, M. T. S.; Queiroz, L. P. **Leguminosas Forrageiras da Caatinga: Espécies importantes para as comunidades rurais do sertão da Bahia**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2002. 112 p.

DAI, P.; JACK, C. J.; MORTENSEN, A. N.; ELLIS, J. D. Acute toxicity of five pesticides to *Apis mellifera* larvae reared in vitro. **Pest Management Science**, v.73, n.11, p.2282-2286, 2017.

DEL LAMA, M. A.; PERUQUETTI, R. C. Mortalidade de abelhas visitantes de flores de *Caesalpinia peltophoroides* Benth (Leguminosae) no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.50, n.4, p.547-549, 2006.

DELAPLANE, K. S.; MAYER, D. F., **Crop pollination by bee**. 2º ed. Oxfordshire: Oxfordshire Publishing, 2005.344p.

FERNANDES, I. M. S, **Avaliação toxicológica do pólen de mamona (*Ricinus communis*) para abelhas (*Apis mellifera*)**, 2013. Dissertação, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2013.

FUNASAKI, M. **Estruturas, atividade biológica e biossíntese de metabólitos secundários de *Ocotea catharinensis* Mez (Lauraceae)**. 2006. 132 f. Tese, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

GALVÃO SOBRINHO, P. H.; LOPES, M. A. C.; ARAÚJO, W. L.; SILVEIRA, D. C.; SOUSA, J. A.; SOUSA, J. S. Efeito tóxico da flor de quixabeira sobre *Apis mellifera*. In: Congresso Nordeste de Apicultura e Meliponicultura, 3. 2013. **Anais...**, Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável: GVAA, Campina Grande, 2013.

GENERSCH, E. Honey bee pathology; current threats to honey bees and beekeeping. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.87, p.87-97, 2010.

HEARD, M. S.; BAAS, J.; DORNE, J. L.; LAHIVE, E.; ROBINSON, A. G.; RORTAIS, A.; SPURGEON, D. J.; SVENDSEN, C.; HESKETH, H. Comparative toxicity of pesticides and environmental contaminants in bees: Are honey bees a useful proxy for wild bee species? **Science of The Total Environment**, v.578, p.357-365, 2017.

HENRIQUE, R. G.; PEREIRA, D. S.; OLIVEIRA, A. M.; MEDEIROS, P. V. Q.; CUNHA, F. F.; Perfil dos produtores familiares de mel no município de Serra do Mel - RN. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v.3, n.4, p.29-41, 2008.

HIGES, M.; MARTÍN-HERNÁNDEZ, R.; GARRIDO-BAILÓN, E.; GONZÁLEZ-PORTO, A. V.; GARCÍA-PALENCIA, P.; MEANA, A.; NOZAL, M. J.; MAYO, R.; BERNAL, J. L. Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. **Environmental Microbiology Reports**, v.1, n.2, p.110–113, 2009.

INSUASTY-SANTACRUZ, E., MARTÍNEZ-BENAVIDES, J., JURADO-GÁMEZ, H. Identificación de flora y análisis nutricional de miel de abeja para la producción apícola. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, v.14, n.1, p.37-44, 2016.

KERR, W. E. Biologia geral, comportamento e genética de abelhas. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, Congresso Latino-Ibero-Americano de Apicultura, 1984,. **Anais...** Viçosa: UFV, 1984. p. 109-116.

KEVAN, P. G.; BAKER, H. G. Insects as flower visitors and pollinators. **Annual Review of Entomology**, v.28, p.407-53, 1983.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012. 472p.

KLEIN, A. M.; VAISSIÈRE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.274, p.303-313, 2007.

KUMAR, D.; ROY, R.; PARASHAR, A.; RAICHUR, A. M.; CHANDRASEKARAN, N.; MUKHERJEE, A.; MUKHERJEE, A. Toxicity assessment of zero valent iron nanoparticles on *Artemia salina*. **Environmental Toxicology**, v.32, n.5, p.1617–1627, 2017.

- LAMA, M. A. D.; PERUQUETTI, R. C. Mortalidade de abelhas visitantes de flores de *Caesalpinia peltophoroides* Benth (Leguminosae) no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.50, n.4, p.547-549, 2006.
- LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; LIMA, M. C. M. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. p.183-199. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 4ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade, 2002.
- LEITE, A. M.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; DINIZ, M. F. F. M.; LEITE, S. P.; XAVIER, A. L.; MEDEIROS, I. A. Estudo preliminar das propriedades moluscidas e larvicidas de alguns óleos essenciais e fitoquímicos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, n.4, p.842-846, 2009.
- LIBRALATO, G. The case of *Artemia* spp. in nanoecotoxicology. **Marine Environmental Research**, v.101, p.38-43, 2014.
- LIMA, L. C. L.; SILVA, F. H. M.; SANTOS, F. A. R. Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae – Mimosoideae) do Semi-Árido brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, v.22, n.3, p.794-805, 2008.
- LOPES, C. G. R.; BEIRÃO, D. C. C.; PEREIRA, L. A.; ALENCAR, L. C. Levantamento da flora apícola em área de cerrado no município de Floriano, estado do Piauí, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**. v.14, n.2, p.102-110, 2016.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. p.384.
- LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, n.2, p.99-206, 2005.
- MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413 p.
- MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I. ; HRNCIR, M. ; QUEIROZ, R. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas visitadas por abelhas na Caatinga**. 1ª ed. Fortaleza: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012. 191 p.
- MALASPINA, O.; SILVA-ZACARIN, E. C. M. Cell makers for ecotoxicological studies in target organs of bees. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**. v.23, n.34, p. 303-309, 2006.

- MARACAJÁ, P. B.; LEITE, D. T.; ALBUQUERQUE NETO, F. A.; COELHO, D.; C FORMIGA, K. R. E.; CAVALCANTI, M. T.; SILVEIRA, D. C. Toxicidade de flores de Melão São Caetano a abelhas africanizadas em condições controladas. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.7, n.1, p.11-15, 2011.
- MARACAJÁ, P. B.; LEITE, D. T.; FREIRE, M. S.; SILVEIRA, D. C.; CAVALCANTI, M. T.; COELHO, D. C. Efeito tóxico do extrato de flores de *Moringa oleifera* L. para abelhas *Apis mellifera* africanizadas. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.6, n.3, p.33-37, 2010.
- MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P. Análise de agrupamento, com base na composição físico-química, de amostras de méis produzidos por *Apis mellifera* L. no Estado de São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.8-17, 2005.
- MATTILA, H. R.; OTTIS, G. W. Effects of pollen availability and Nosema infection during the spring on division of labour and survival of worker honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Entomology**, v.35, p.708-717, 2006.
- MELO, V. A.; LEITE, D. T.; GUEDES, G. N.; FERREIRA, M. L. B.; SILVA, R. A. Toxicidade de flores de jurema-preta às abelhas operárias *Apis mellifera*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.5, p.01-05, 2011.
- MESQUITA, L. X.; MARACAJA, P. B.; SAKAMOTO, S. M.; SOTO-BLANCO, B. Toxic evaluation in honey bees (*Apis mellifera*) of pollen from selected plants from the semi-arid region of Brazil. **Journal of Apicultural Research**, v.49, n.3, p.265-69, 2010.
- MESQUITA, L. X.; MARACAJÁ, P. B.; FREITAS, R. S.; SAKAMOTO, S. M.; MEDEIROS, C. D.; AROUCHA, E. M. M. Toxicidade de flores de Leguminosae Mimosoideae fornecidas artificialmente em condições controladas para Abelhas. In: Congresso Brasileiro de Zootectecnia. 2008. **Anais...** João Pessoa, 2008.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. A.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v.45, p.31-34, 1982.
- MORAES, S. S., BÀUTISTA, A. R. L., VIANA, B. F. Avaliação da Toxicidade Aguda (DL₅₀ e CL₅₀) de Inseticidas para *Scaptotrigona tubiba* (Smith) (Hymenoptera: Apidae): Via de Contato. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.1, p.31-37, 2000.
- MOTULSKY, M. D. H. **Intuitive Biostatistics**, New York: Oxford University Press, 1995. 386 p.
- NASCIMENTO, J. M.; ARAUJO, W. L.; BORGES, M. G. B.; ANDRADE, M. E. L.; SOUSA, J. S. Efeito toxico do macerado da flor de *Crotalaria micans* link sobre abelhas

operaria africanizadas. In: Seminário Zootécnico do Sertão Paraibano, 1. 2013. **Anais...**, Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável: GVAA, Pombal, 2013.

NGUTA, J. M.; MBARIA, J. M.; GAKUYA, D. W.; GATHUMBI, P. K.; KABASA, J. D.; KIAMA, S. G. Biological screening of Kenyan medicinal plants using *Artemia Salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v.14, n.2, p.358-361, 2011.

NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. Botanical affinity of pollen harvested by *Apis mellifera* L. in a semi-arid area from Bahia, Brazil. **Grana**, v.48, n.3, p.224–234, 2009.

NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M.; STAPPEN, G. V. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v.144, n.2, p.453-462, 2006.

PALAZUELOS BALLIVIAN, J. M. P. **Abelhas nativas sem ferrão M̃yg P̃ẽ**. São Leopoldo: Oikos. 2008. 129 p.

PEREIRA, A. M. **Toxicidade de *Lantana camara* (Verbenaceae) em operárias de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. 2005, 65 p. Dissertação, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2005.

PEREIRA, D. S.. **Estudo do Potencial de Produção de Néctar da jítirana branca (*Merremia aegyptia*) em Área de Preservação da Caatinga em Quixeramobim-CE**. 2008, 95f. Dissertação, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

PEREIRA, F. M.; FREITAS, B. M.; ALVES, J. E. CAMARGO, R. C. R.; LOPES, M. T. R.; VIEIRA NETO, J. M.; ROCHA, R. S. **Flora Apícola no Nordeste**. Teresina: **Embrapa**. 2004. 39 p.

PEREIRA, I. M.; ANDRADE, L. A.; COSTA, J. R. M.; DIAS, J. M. Regeneração natural em um remanescente de caatinga sob diferentes níveis de perturbação, no agreste paraibano. **Acta Botanica Brasilica**, v.15, n.3, p.413-426, 2001.

PROCTOR, M.; YEAO, P.; LACK, A. **The natural history of pollination**. London: Harper Collins Publishers, 1996. 479p.

RCPOL. **Rede de catálogos polínicos online**. Disponível em: <<http://chaves.rcpol.org.br/>>. Acesso em: 8/1/2018.

REIS, I. T. **Flora de manutenção para *apis mellifera* no município de Paramoti-Ceará-Brasil**. 2009, 80 f. Dissertação, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2009.

ROCHA NETO, J. T.; LEITE, D. T.; MARACAJÁ, P. B.; PEREIRA FILHO, R. R.; SILVA, D. S. O. Toxicidade de flores de *Jatropha gossypifolia* L. à abelha africanizada em condições controladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v.6, n.2. 2011.

ROSA, C. S.; VERAS, K. S.; SILVA, P. R.; LOPES NETO, J. J.; CARDOSO, H. L. M.; ALVES, L. P. L.; BRITO, M. C. A.; AMARAL, F. M. M.; MAIA, J. G. S.; MONTEIRO, O. S.; MORAES, D. F. C. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.19-26, 2016.

ROTHER, D. C.; SOUZA, T. F.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Suscetibilidade de operárias e larvas de abelhas sociais em relação à ricinina. **Iheringia**, v.99, n.1, p.61-65, 2009.

ROTHER, D. C.; SOUZA, T. F.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Suscetibilidade de operárias e larvas de abelhas sociais em relação à ricinina. **Iheringia**, v.99, n.1, p.61-65, 2009.

SABBAG, O. J.; NICODEMO, D. Viabilidade econômica para produção de mel em propriedade familiar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, n.1, p.94-101, 2011.

SANTORO, K. R.; VIEIRA, M. E. Q.; QUEIROZ, M. L.; QUEIROZ, M. C.; BARBOSA, S. B. P. Efeito do tanino de *stryphnodendron* spp. sobre a longevidade de abelhas *Apis mellifera* L. (abelhas africanizadas). **Archivos de Zootecnia**, v.53, p.281-291, 2004.

SANTOS, C. S. dos; RIBEIRO, A. de S. Apicultura uma alternativa na busca do desenvolvimento sustentável. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.4, n. 3, p.01-06, 2009.

SANTOS, D. C.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Composição química, atividade citotóxica e antioxidante de um tipo de própolis da Bahia. **Química Nova**, v.40, n.2, 2017.

SEBRAE, Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, **Gestão orientada para resultados – A experiência da rede Apis**, 2005.

SILVA A. S.; FERNANDES, N. S.; CAVALCANTE, A. M.; LIMA, A. D. N.; FREITAS, B. M. Florescimento induzido da jurema preta para fornecer pólen à abelha melífera na estiagem da caatinga. **Revista Caatinga**, v.28, n.2, p.197-206, 2015

SILVA, A. P. C.; SANTOS, F. A. R. Pollen diversity in honey from Sergipe, Brazil. **Grana**, v.53, n.2, p.159–170, 2014.

SILVA, C. A. de L., SILVA, D. P. da, PINTO, M. do S. de C., SILVA, K. B., TARGINO, L. C. Levantamento da flora apícola em municípios da microrregião de Catolé do Rocha-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.9, n.3, p.223-235, 2014.

SILVA, C. V.; MESQUITA, L. X.; MARACAJÁ, P. B.; SOTO-BLANCO, B. Toxicity of *Mimosa tenuiflora* pollen to Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, n.2, p.161-163, 2010.

SILVA, J. A. G.; LIMA, I. R.; SANTANA, M. A. N.; SILVA, T. M. S.; SILVA, M. I. A. G.; LEITE, S. P. Screening Fitoquímico e Avaliação da Toxicidade de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) frente à *Artemia salina* Leach. **Revista Virtual de Química**, v.9, n.3, p.934-941, 2017.

SILVA, R. A. **Plantas Apícolas da Paraíba**. João Pessoa: SEBRAE, 2010. 120p.

SILVA, R. A.; EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; AQUINO I. S.; FELIX L. P.; MATA, M. F.; PERONICO, A. S. Caracterização da flora apícola do Semi-árido da Paraíba. **Archivos de zootecnia**. v.57, n.220, p.427-438, 2008.

SILVA-FILHO, J. P.; SILVA, R. A.; COSTA, M. J. S. Potencial apícola para *Apis mellifera* L em área de caatinga no período da floração da oiticica (*Licania rigida* Benth). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.1, p.120-128, 2010.

SOUSA, E. P.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; ALMEIDA, F. A. C.; GOMES, J. P. Comportamento reológico de méis das floradas de angico e marmeleiro em diferentes temperaturas. **Engevista**, v.18, n.2, p.389-401, 2016.

SOUSA, M. A.; LEITE, D. T.; FAUSTINO, J. F.; ANDRADE, S. O.; AZEVEDO, S. L.; BARRETO, C. F.; MARACAJÁ, P. B. Efeito de flores de *Heliotropium indicum* L. para *Apis mellifera* alimentadas artificialmente. **Agropecuária do Científica no Semi-Árido**, v.9, n.3, p.50-54, 2013.

STANLEY, J.; SAH, K.; JAIN, S. K.; BHATT, J. C.; SUSHIL, S. N. Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honeybees, *Apis cerana* and *A. mellifera* through laboratory, semi-field and field studies. **Chemosphere**, v.119, p.668-674, 2015.

STEEN, J. V. D. Review of the methods to determine the hazard and toxicity of pesticides to bumblebees. **Apidologie**, v.32, p.399-406, 2001.

STEIJVEN, K.; STEFFAN-DEWENTER, I.; HÄRTEL, S. Testing dose-dependent effects of stacked Bt maize pollen on in vitro-reared honey bee larvae. **Apidologie**, v.47, n.2, p.216–226, 2016.

THOMPSON, H. M.; Fryday, S. L.; Harkin, S.; Milner, S. Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. **Apidologie**, v.45, n.5, p.545–553, 2014.

TROVÃO, D. M.; SOUZA, B. C.; CARVALHO, E. D.; OLIVEIRA, P. T. B.; FERREIRA, L. M. R. Espécies vegetais da caatinga associadas às comunidades de Abelhas (Hymenoptera: Apoidea: Apiformis). **Revista Caatinga**, v.22, n.3, p.136-143, 2009.

- VEIGA, L. F.; VITAL, N. A.; PORTELA, M. R.; OLIVEIRA, F. F. **Avaliação de faixa de sensibilidade de *Artemia salina* ao Lauril Sulfato de Sódio**. Rio de Janeiro: PETROBRÁS/CENPES/SUPESQ/DITER, 1989. 64p. il.
- VIDAL, M. F. Desempenho da apicultura nordestina em anos de estiagem. **Caderno Setorial ETENE**, v.2, n.11, p.2-10, 2017.
- VIDAL, M. G.; JONG, D.; WIEN, H. C.; MORSE, R. A.. Nectar and pollen production in pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). **Brazilian Journal of Botany**, v.29, n.2, p.267-273, 2006.
- VIDAL, M. G.; SANTANA, N. S., VIDAL, D. Flora apícola e manejo de apiários na região do Recôncavo sul da Bahia. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v.6, n.4, p.503-509, 2008.
- WATERHOUSE, A. Folin-ciocalteau micro method for total phenol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, p.3-5, 2006.
- WEEKS, E. N. I.; SCHMEHL, D. R.; BANISZEWSKI, J.; TOMÉ, H. V. V.; CUDA, J. P.; ELLIS, J. D.; STEVENS, B. R. Safety of methionine, a novel biopesticide, to adult and larval honey bees (*Apis mellifera* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.149, p.211-216, 2018
- WOLFF, L. F.; GOMES, G. C.; RODRIGUES, W. F.; BARBIERI, R. L.; MEDEIROS, C. A. B.; CARDOSO, J. H. **Flora apícola arbórea nativa na região Serrana de Pelotas para a apicultura sustentável do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 38p.
- ZERBO, A. C.; MORAES, R. L. M. S.; BROCHETTO-BRAGA, M. R. Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae): midgut proteolytic activity and pollen digestion. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.129, p.139-147, 2001.
- ZWOFLER, H. Patterns and driving forces in the evolution of plant-insect systems. In: **Internacional Symposium of Plant-Insect Relationships**. Wageningen. 1982. **Anais...** Wageningen, The Netherlands, 1982, p.287-296.