

## Plano de Trabalho

### 1 DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

<i>Título da proposta</i>	<b>NAPI ABELHAS</b>
<i>Áreas prioritárias de ação projeto</i>	<p>FORTALECIMENTO DAS POLÍTICAS PÚBLICAS DA ÁREA:</p> <p>( ) Transformação Digital;          (X) Desenvolvimento Sustentável;          (X) Agricultura &amp; Agronegócios;          (X) Biotecnologia &amp; Saúde;          ( ) Energias Renováveis;          (X) Cidades Inteligentes;          ( ) Sociedade, educação e economia.</p> <p>Áreas transversais: [ ] Transformação Digital [X] Des. Sustentável</p>
<i>Instituição Executora</i>	Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Fundação de Apoio à UTFPR - FUNTEF
<i>CNPJ</i>	02.032.297/0001-00
<i>Instituição Convenente</i>	UTFPR - UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
<i>CNPJ</i>	75.101.873/0001-90
<i>Coordenador do projeto</i>	Michele Potrich (Coordenadora) Fabiana Martins Costa (vice coordenadora)
<i>E-mail</i>	<a href="mailto:michelepotrich@professores.utfpr.edu.br">michelepotrich@professores.utfpr.edu.br</a> <a href="mailto:michelepotrich@utfpr.edu.br">michelepotrich@utfpr.edu.br</a> <a href="mailto:profmichele@gmail.com.br">profmichele@gmail.com.br</a> <a href="mailto:fabianamcosta@utfpr.edu.br">fabianamcosta@utfpr.edu.br</a>
<i>Telefones</i>	(45) 99101-0322 ou (46) 3536-8900
<i>Instituição Colaboradora</i>	<b>FAUEL - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Universidade Estadual de Londrina/ Universidade Estadual de Londrina (UEL)</b>
<i>CNPJ</i>	03.061.086/0001-50

Contato responsável na IES Colaboradora	Carlos Eduardo Caldarelli
E-mail	<a href="mailto:caldarelli@uel.br">caldarelli@uel.br</a>
Telefones	043 996097509
<b>Instituição Colaboradora</b>	<b>FUNDAÇÃO DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO/ Universidade Estadual de Maringá (UEM)</b>
CNPJ	80.897.432/0001-86
Contato responsável na IES Colaboradora	Maria Claudia Colla Ruvolo Takasusuki
E-mail	<a href="mailto:mccrtakasusuki@uem.br">mccrtakasusuki@uem.br</a>
Telefones	044 99736-8556
<b>Instituição Colaboradora</b>	<b>Universidade Estadual do Oeste do Paraná, <i>Campus Toledo</i> (Unioeste)</b>
CNPJ	78.680.337/0005-08
Contato responsável na IES Colaboradora	Cleber Antonio Lindino
E-mail	<a href="mailto:lindino99@gmail.com">lindino99@gmail.com</a>
Telefones	045 3379-7065
<b>Instituição Colaboradora</b>	<b>Fundação da Universidade Federal do Paraná para o Desenvolvimento da Ciência, da Tecnologia e da Cultura (FUNPAR) / Universidade Federal do Paraná (UFPR)</b>
CNPJ	78.350.188/ 0001-95
Interveniente técnica	<b>Universidade Federal do Paraná (UFPR)</b>
Contato responsável na IES Colaboradora	Rodrigo Barbosa Gonçalves
E-mail	<a href="mailto:rbg@ufpr.br">rbg@ufpr.br</a>
Telefones	041 995419689
<b>Instituição Colaboradora</b>	<b>Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA)</b>
CNPJ	11.806.275/0001-33
Contato responsável na IES Colaboradora	Marcela Boroski
E-mail	<a href="mailto:marcela.boroski@unila.edu.br">marcela.boroski@unila.edu.br</a>
Telefones	045 35229695
<b>Instituição Colaboradora</b>	<b>Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Unicentro – FAU/ Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO)</b>
CNPJ	03.757.610/0001-22
Contato responsável na	Paulo Roberto da Silva

IES Colaboradora	
E-mail	<a href="mailto:prsilva@unicentro.br">prsilva@unicentro.br</a>
Telefones	042 999691090
Instituições Envolvidas na Execução:	<p>Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)</p> <p>FAUEL - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Universidade Estadual de Londrina/ Universidade Estadual de Londrina (UEL)</p> <p>FUNDAÇÃO DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO/ Universidade Estadual de Maringá (UEM)</p> <p>Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste)</p> <p>Universidade Federal do Paraná (UFPR): Instituição Interveniente Técnica / Fundação da Universidade Federal do Paraná para o Desenvolvimento da Ciência, da Tecnologia e da Cultura (FUNPAR)/Curitiba: Instituição Executora Financeira</p> <p>Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA)</p> <p>Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Unicentro – FAU/ Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO)</p> <p>Superintendência de Agricultura e Pecuária do Estado do Paraná (SFA/PR – MAPA)</p> <p>Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR)</p>
Parceiros Internacionais envolvidos	<p>University of Georgia – USA (UGA)</p> <p>Purdue University – USA (PU)</p> <p>University of Catania – Italy (UNICT)</p>
Vigência:	48 meses

## 2 DADOS DA EQUIPE DO PROJETO (COORDENADOR/EQUIPE)

<b>Nome</b>	<b>Função</b>	<b>Instituição</b>	<b>Link Currículo Lattes</b>
<b>Michele Potrich</b>	<b>Coordenadora</b>	<b>UTFPR - DV</b>	<b><a href="http://lattes.cnpq.br/6017285848848713">http://lattes.cnpq.br/6017285848848713</a></b>
<b>Fabiana M. Costa</b>	<b>Vice-Coordenadora</b>	<b>UTFPR - DV</b>	<b><a href="http://lattes.cnpq.br/6327885831127043">http://lattes.cnpq.br/6327885831127043</a></b>
André R. Ortonceli	Pesquisador	UTFPR - DV	<a href="http://lattes.cnpq.br/0272073623612801">http://lattes.cnpq.br/0272073623612801</a>
Carlos A. L. de Oliveira	Pesquisador	UEM	<a href="http://lattes.cnpq.br/1528283267847962">http://lattes.cnpq.br/1528283267847962</a>
Carlos E. Caldarelli	Pesquisador	UEL	<a href="http://lattes.cnpq.br/1381388892281691">http://lattes.cnpq.br/1381388892281691</a>
Cleber A. Lindino	Pesquisador	Unioeste - TD	<a href="http://lattes.cnpq.br/5882513103054906">http://lattes.cnpq.br/5882513103054906</a>
Cleverson Busso	Pesquisador	UTFPR - TD	<a href="http://lattes.cnpq.br/5986131313813011">http://lattes.cnpq.br/5986131313813011</a>
Edmar S. de Vasconcelos	Pesquisador	Unioeste - MR	<a href="http://lattes.cnpq.br/2678110878996912">http://lattes.cnpq.br/2678110878996912</a>
Eliane Gasparino	Pesquisadora	UEM	<a href="http://lattes.cnpq.br/9359055581511557">http://lattes.cnpq.br/9359055581511557</a>
Ericson Hideki Hayakawa	Pesquisador	Unioeste - MR	<a href="http://lattes.cnpq.br/4329506543421390">http://lattes.cnpq.br/4329506543421390</a>
Everton R. L. da Silva	Pesquisador	UTFPR - DV	<a href="http://lattes.cnpq.br/0137021895397436">http://lattes.cnpq.br/0137021895397436</a>
Gabriel A. R. de Melo	Pesquisador	UFPR	<a href="http://lattes.cnpq.br/2921596575208159">http://lattes.cnpq.br/2921596575208159</a>
Guilherme G. Bessegato	Pesquisador	UTFPR - DV	<a href="http://lattes.cnpq.br/0445180587973481">http://lattes.cnpq.br/0445180587973481</a>
João Marcelo D. Miranda	Pesquisador	UNICENTRO	<a href="http://lattes.cnpq.br/7830489812603265">http://lattes.cnpq.br/7830489812603265</a>
José H. Soares	Colaborador	IDR	<a href="http://lattes.cnpq.br/0915007056242463">http://lattes.cnpq.br/0915007056242463</a>
Luiz R. R. Faria Junior	Pesquisador	UNILA	<a href="http://lattes.cnpq.br/9552279377504096">http://lattes.cnpq.br/9552279377504096</a>
Marcela Boroski	Pesquisadora	UNILA	<a href="https://lattes.cnpq.br/5278975910824975">https://lattes.cnpq.br/5278975910824975</a>
Marco Tadeu Grassi	Pesquisador	UFPR	<a href="http://lattes.cnpq.br/2575554403814311">http://lattes.cnpq.br/2575554403814311</a>
Marcos A. Gonçalves	Colaborador	MAPA	<a href="http://lattes.cnpq.br/4504153542112621">http://lattes.cnpq.br/4504153542112621</a>
Maria C. C. R. Takasusuki	Pesquisadora	UEM	<a href="http://lattes.cnpq.br/2318400558555562">http://lattes.cnpq.br/2318400558555562</a>
Maria Luisa T. Buschini	Pesquisadora	UNICENTRO	<a href="http://lattes.cnpq.br/6488069929162509">http://lattes.cnpq.br/6488069929162509</a>
Marlon Tiago Hladczuk	Colaborador	IDR	---
Milene O. Pereira	Pesquisadora	UTFPR - DV	<a href="https://lattes.cnpq.br/7045039505817648">https://lattes.cnpq.br/7045039505817648</a>
Paula F. Montanher	Pesquisador	UTFPR - DV	<a href="http://lattes.cnpq.br/7565400427188557">http://lattes.cnpq.br/7565400427188557</a>
Paulo Roberto da Silva	Pesquisador	UNICENTRO	<a href="http://lattes.cnpq.br/5507170343259076">http://lattes.cnpq.br/5507170343259076</a>
Regina C. Garcia	Pesquisador	Unioeste - MR	<a href="http://lattes.cnpq.br/6359569159150875">http://lattes.cnpq.br/6359569159150875</a>
Renata Mussoi Giacomini	Pesquisadora	UNICENTRO	<a href="http://lattes.cnpq.br/1266917616108598">http://lattes.cnpq.br/1266917616108598</a>
Renato Eising	Pesquisador	UTFPR - TD	<a href="http://lattes.cnpq.br/6674593941272595">http://lattes.cnpq.br/6674593941272595</a>
Rodrigo B. Gonçalves	Pesquisador	UFPR	<a href="http://lattes.cnpq.br/8904263445943094">http://lattes.cnpq.br/8904263445943094</a>
Silvia Helena Sofia	Pesquisadora	UEL	<a href="http://lattes.cnpq.br/9708788401690874">http://lattes.cnpq.br/9708788401690874</a>
Sueli Pércio Quinaia	Pesquisadora	UNICENTRO	<a href="http://lattes.cnpq.br/3256907601004018">http://lattes.cnpq.br/3256907601004018</a>
Vagner A. A. Toledo	Pesquisador	UEM	<a href="http://lattes.cnpq.br/5591060043298330">http://lattes.cnpq.br/5591060043298330</a>
Wilma A. Spinosa	Pesquisadora	UEL	<a href="http://lattes.cnpq.br/1982711995508281">http://lattes.cnpq.br/1982711995508281</a>
Yohandra Reyes Torres	Pesquisadora	UNICENTRO	<a href="http://lattes.cnpq.br/9724560887352587">http://lattes.cnpq.br/9724560887352587</a>
Samuel Nicolau Hanel	Pesquisador	Unioeste - MR	<a href="http://lattes.cnpq.br/0278487827103920">http://lattes.cnpq.br/0278487827103920</a>

## NAPI ABELHAS

### 3 INFORMAÇÕES DA PROPOSTA

#### 3.1 *Resumo*

As abelhas desempenham um importante papel como bioindicadores ambientais, sendo essenciais para os ecossistemas naturais e agrícolas, contribuindo significativamente para a polinização e a produção de uma variedade de produtos apícolas. Estima-se que 90% das principais espécies cultivadas dependem da polinização por abelhas, contribuindo significativamente para a produção de alimentos. No Brasil, esse serviço é avaliado em bilhões de dólares anualmente, sendo fundamental para diversas culturas. No Paraná, um estado agrícola, os desafios incluem avaliar os riscos de agrotóxicos para as abelhas, melhorar a qualidade dos produtos apícolas e do mel, aprimorar o melhoramento genético das abelhas para garantir a competitividade estadual na produção nacional e fomentar a produtividade e a renda. Além disso, é importante compreender a diversidade, ecologia e conservação das abelhas locais para impulsionar a produção e polinização, além de orientar os produtores em questões relacionadas aos negócios. Embora as abelhas *Apis mellifera* e Meliponini sejam reconhecidas por sua importância na produção de mel e polinização agrícola, é essencial reconhecer a vasta diversidade de abelhas, com milhares de espécies no mundo, incluindo centenas no Brasil. Muitas dessas espécies, mesmo não produtoras de mel, desempenham papéis como polinizadores e indicadores de qualidade ambiental. No entanto, o conhecimento sobre a diversidade, ecologia e conservação de abelhas no Paraná é limitado. Assim, o NAPI Abelhas visa abordar esses desafios e para isto objetiva implantar uma rede de pesquisa em Abelhas e seus produtos (NAPI Abelhas) com foco na produção e integração de conhecimentos para conservação das espécies, apoio ao setor produtivo apícola do Paraná e agregação de valor nos seus produtos. Neste sentido, o NAPI abelhas está dividido em cinco eixos temáticos: 1) Risco de Agrotóxicos às abelhas; 2) Caracterização e qualidade de produtos apícolas e meliponícolas; 3) Melhoramento Genético; 4) Diversidade, Ecologia e Conservação de abelhas paranaenses; e 5) Escolas de Negócios.

#### 3.2 *Justificativa*

As abelhas atuam como bioindicadores ambientais e desempenham papéis destacáveis nos ecossistemas naturais e agrícolas, como a polinização, produção de mel, pólen, própolis, apitoxina, cera, geleia real<sup>1-6</sup>. Estima-se que 90% das principais espécies cultivadas dependem da polinização por abelhas<sup>7</sup>, as quais contribuem com 35% da produção de alimentos e 5% a 8% do valor da produção mundial<sup>8</sup>. Globalmente, esse serviço é avaliado entre US\$ 195 bilhões e US\$ 387 bilhões por ano<sup>9,10</sup>. No Brasil, estima-se que o serviço de polinização valha US\$ 11 bilhões anualmente<sup>11,12</sup>, sendo vital para a renda agrícola de diversas culturas perenes e anuais. No entanto, fatores como desmatamento, mudanças climáticas, poluição, agrotóxicos e doenças ameaçam esse serviço ecossistêmico.

No contexto específico do Paraná, um estado agrícola, os desafios incluem avaliar os riscos de agrotóxicos para as abelhas, melhorar a qualidade dos produtos apícolas, aprimorar o melhoramento genético das abelhas para a competitividade estadual na produção nacional, compreender a diversidade, ecologia e conservação das abelhas locais para impulsionar a produção e polinização, além de orientar os produtores do estado em questões relacionadas aos negócios<sup>13</sup>. Portanto, é crucial abordar esses desafios para garantir a sustentabilidade da produção agrícola e a conservação das abelhas.

Apesar da importância das abelhas melíferas (*Apis mellifera*) e das abelhas sem ferrão (Meliponini) na produção de mel e polinização agrícola, é fundamental reconhecer a vasta diversidade de abelhas, com cerca de 20 mil espécies no mundo, incluindo 1965 no Brasil. Muitas dessas, embora não sociais e não produtoras de mel, desempenham atividades como polinizadores e indicadores de qualidade ambiental. No Paraná, o conhecimento sobre a diversidade, ecologia e conservação de abelhas é limitado, apesar de alguns inventários de fauna que indicam riqueza de espécies em várias localidades<sup>14</sup>. Como exemplo, Curitiba possui uma lista detalhada de 362 espécies de abelhas<sup>15</sup> e, no Paraná, há registros de 45 espécies de abelhas sem ferrão.

Sob uma perspectiva ecológica, as abelhas respondem de diversas maneiras às pressões ambientais, incluindo respostas químicas, morfológicas e interações com plantas. Esse conhecimento pode informar estratégias como o consórcio de espécies em meliponários e o uso de abelhas para a polinização assistida. No caso das abelhas solitárias, um desafio reside no fornecimento de substratos para nidificação em ambientes urbanos e agrícolas. Por outro lado, o aumento na densidade de abelhas devido à criação intensiva pode intensificar a competição das abelhas por recursos florais<sup>16-18</sup>. Neste sentido, a criação sustentável de abelhas sem ferrão em meliponários pode ser uma alternativa benéfica, unindo produção de alimentos e conservação. Assim, identificar espécies de abelhas com dietas menos sobrepostas pode otimizar os consórcios de espécies em meliponários.

Apesar dessa importância, os criadores de abelhas têm observado a mortalidade desses insetos nas proximidades das colônias, com traços de agrotóxicos, afetando tanto as abelhas quanto o mel e a cera<sup>19-22</sup>. Essas substâncias podem não causar a morte imediata das abelhas, mas têm efeitos subletais, prejudicando sua orientação e capacidade de voo. Isso dificulta o retorno das abelhas à colônia e, quando retornam, podem contaminá-la, enfraquecendo ou até mesmo causando sua morte<sup>23-26</sup>. No entanto, para as abelhas solitárias, os dados sobre esses riscos são limitados e complexos de obter.

As pesquisas e o desenvolvimento de novas moléculas químicas e agentes de controle têm avançado na agricultura, visando melhorar e aumentar a produção de alimentos e a qualidade das culturas<sup>27,28</sup>. Por outro lado, o impacto dessas substâncias nas abelhas é uma preocupação crescente. O número de estudos relacionando a mortalidade das abelhas ao uso de agrotóxicos está em constante crescimento, com os Estados Unidos liderando em publicações e o Brasil ficando em quinto lugar<sup>1</sup>, sendo que o Paraná não apresenta destaque nessas pesquisas.

Considerando o declínio da população de abelhas, o desenvolvimento de estratégias para programas de melhoramento genético de abelhas é essencial para a conservação das espécies<sup>29</sup>. Estudos sobre a qualidade das rainhas desempenham um papel basal, informando sobre reprodução, saúde e produtividade das colônias e orientando o planejamento dessas estratégias.

O melhoramento genético em abelhas ainda não é amplamente aplicado devido a peculiaridades reprodutivas<sup>30</sup>. Além disso, o sistema de produção apícola global ainda não contempla de maneira abrangente aspectos como definição de objetivos de seleção, coleta e análise de dados, reprodução e controle da consanguinidade<sup>6</sup>. Portanto, é fundamental conduzir estudos que avaliem a qualidade reprodutiva e sanitária das rainhas de abelhas no Brasil, a fim de estabelecer metas e critérios de seleção que possam impulsionar o ganho genético em relação às características de qualidade das rainhas e, conseqüentemente, aprimorar a produção de mel.

A conservação das abelhas e a melhoria da qualidade do mel são desafios fundamentais, considerando a queda da população de abelhas em todo o mundo. O mel é composto por uma variedade de substâncias químicas, sendo valorizado por seu sabor e propriedades medicinais. A pureza do mel é

crucial, pois é consumido principalmente *in natura*, exigindo alta qualidade e segurança para o consumo humano<sup>31,32</sup>. No entanto, como qualquer alimento, o mel é propenso a vários tipos de contaminação<sup>33</sup> e adulterações, como a adição de xarope de glicose e outros açúcares, bem como baixa qualidade por manejo inadequado<sup>34,35</sup>. Isto compromete a autenticidade e o valor nutricional do mel<sup>36</sup>. O monitoramento constante de contaminantes no mel é fundamental para a segurança alimentar e a detecção de resíduos de agrotóxicos (principal fonte de contaminação) nas áreas circundantes das colmeias<sup>31,32,37-39</sup>. Assim, o mel pode servir como um indicador da contaminação ambiental.

Nesse mesmo sentido, percebe-se cada vez mais uma tendência dos consumidores em valorizar a origem dos produtos e serviços que consomem. Existem muitas ferramentas de proteção e de promoção da origem, e a mais eficiente e reconhecida mundialmente é a Indicação Geográfica (IG). As IGs são usadas para identificar produtos com qualidade única de uma região específica, proporcionando valor agregado. A busca por uma Denominação de Origem (DO), para o mel das várias regiões do Paraná, pode ser apoiada por pesquisas que relacionam as características do mel à sua origem geográfica, como estudos fitogeográficos, melissopalínologia e análises físico-químicas. A melissopalínologia, que envolve a análise do pólen presente no mel, pode indicar a origem geográfica do mel e as plantas visitadas pelas abelhas, contribuindo para a caracterização da flora apícola local<sup>40,41</sup>.

Especialistas identificaram que o mel produzido em certas regiões do Paraná, próximas ao Parque Nacional do Iguaçu e ao vale do Rio Iguaçu, possuem características distintas, incluindo cor, textura e sabor, devido a florações específicas, como o louro branco e cambará. Em 2020, o Sebrae conduziu um projeto de Avaliação do Potencial de Indicação Geográfica (IG) para o Mel do Parque Nacional do Iguaçu. O estudo ressalta a importância da análise da pureza do mel, a segurança das abelhas no setor agrícola e o melhoramento genético para a conservação das abelhas e aprimoramento da polinização, agregando valor aos produtos.

Neste sentido, o NAPI Abelhas pode aproveitar dados e experiências da obtenção do selo de Indicação de Procedência (IP) para o mel do Oeste do Paraná, conquistado em 2017. A apicultura na região, impulsionada por instituições de assistência técnica e pesquisa, melhorou a produtividade e agregou valor ao mel, colaborando para a expansão desta atividade e levando à busca pelo selo de Indicação Geográfica (IG), na modalidade de Indicação de Procedência<sup>42</sup>.

Este NAPI foca na importância das abelhas nos ecossistemas agrícolas e naturais e a necessidade de avaliar os efeitos dos agrotóxicos nas abelhas, tanto em *Apis mellifera* quanto em abelhas nativas sem ferrão. Além disso, destaca a importância do melhoramento genético das abelhas para a conservação e melhoria da produção apícola. A denominação de origem do mel e a análise de produtos seguros para abelhas também são abordadas, incluindo análises de contaminantes no mel e pesquisas sobre agrotóxicos. Também considera o uso de abelhas nativas como indicadores de qualidade ambiental. Esse projeto beneficiará o agronegócio, o desenvolvimento sustentável e fortalecerá a pesquisa sobre abelhas no Paraná, com aplicações nacionais e internacionais.

Esta proposta também estreita os laços das diversas IES, especialmente as do estado do Paraná, associadas a outras instituições nacionais e internacionais (como o Instituto Politécnico de Bragança e a Universidade Trás-os-Montes, ambas de Portugal) que têm por objetivo comum a preservação das abelhas e a melhoria da qualidade de seus produtos e subprodutos. Por fim, pretende-se fortalecer a pesquisa sobre abelhas no estado do Paraná, destacada por gerar tecnologias pioneiras e de ampla aplicação na cadeia apícola nacional e internacional, colocando o Paraná em destaque neste setor. Por fim, este NAPI manterá o Workshop BeeDay, já realizado em duas edições, em 2023 na Unioeste/Campus de Toledo e em

2024, na UTFPR/Campus de Dois Vizinhos, o qual integra pesquisadores, extensionistas, acadêmicos e principalmente o setor produtivo. Neste evento, os resultados das pesquisas são apresentados e discute-se com o setor produtivo os caminhos a serem trilhados e as demandas do momento.

### 3.3 *Objetivos Gerais*

Implantar uma rede de pesquisa em Abelhas e seus produtos (NAPI Abelhas) com foco na produção e integração de conhecimentos para conservação das espécies, apoio ao setor produtivo apícola do Paraná e agregação de valor nos seus produtos.

### 3.4 *Objetivos Específicos*

- 1) Avaliar o risco de diferentes agrotóxicos (herbicidas, fungicidas, inseticidas químicos, biológicos e botânicos) a abelhas (*Apis mellifera* e Meliponini – sem ferrão);
- 2) Caracterizar e avaliar a qualidade de produtos apícolas e meliponícolas, com vistas à certificação e valoração desses produtos;
- 3) Aprimorar as técnicas de melhoramento genético de *Apis mellifera* para aumento e melhoria da produtividade;
- 4) Analisar e avaliar a diversidade, a ecologia e a conservação de abelhas paranaenses e suas respostas às pressões antrópicas;
- 5) Fortalecer as métricas do setor com visibilidade ao mercado e a gestão de negócios.

### 3.5 *Metodologia*

## EIXO 1: RISCO DE AGROTÓXICOS ÀS ABELHAS

### META 1.1 AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A (*APIS MELLIFERA* E A MELIPONINI – SEM FERRÃO)

O projeto será realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), na Universidade Estadual de Londrina (UEL) e na Universidade Estadual de Maringá, utilizando, para isto, diversos laboratórios: LABCON (Controle Biológico I e Controle Biológico II), Genética e Biologia Molecular, Bioquímica, Fisiologia Vegetal e Fitossanidade, Laboratório de Biotecnologia e Genética Animal. Na UTFPR-DV também serão utilizadas as Unidades de Ensino e Pesquisa (Unepes): Povoamentos Florestais, Apicultura e Viveiro de Plantas Hortícolas. Além da IES citadas, outras instituições são e continuarão sendo parceiras deste projeto. *Apis mellifera* e Meliponini serão utilizadas como modelo animal para representar as abelhas.

#### ATIVIDADE 1.1.1 AÇÃO DOS AGROTÓXICOS, POR PULVERIZAÇÃO DIRETA, VIA ALIMENTAÇÃO E POR CONTATO, SOBRE OPERÁRIAS

**Inseticidas químicos, Fungicidas e Herbicidas:** Os inseticidas mais utilizados no setor [Fipronil (pirazol), tiametoxan (neonicotinoide), imidacloprido (neonicotinoide), deltametrina (piretroide), acetamiprido (neonicotinoide), acetamiprido (neonicotinoide) + bifentrina (piretroide), bifentrina (piretroide) + zeta-cipermetrina (piretroide), carbossulfano (metilcarbamato de benzofuranila), zeta-cipermetrina (piretroide), teflubenzurom (benzoilureia), lufeniurom (benzoilureia), tebufenozida (diacilhidrazina), flupiradifurona (butenolideo), dentre outros], bem como o herbicida mais utilizado [Glicina substituída (Glifosato)] serão obtidos das empresas especializadas ou agropecuárias parceiras.

**Inseticidas biológicos:** Fungos entomopatogênicos das espécies *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea*, bem como bactérias entomopatogênicas *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* serão obtidos de produtos comerciais disponibilizados por empresas especializadas e parceiras do projeto.

**Inseticidas botânicos:** Os óleos essenciais e extratos de plantas resultantes de pesquisas já realizadas sobre insetos-pragas [ex.: Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), Pitanga (*Eugenia uniflora*), Patchouli (*Pogostemon cablin*), etc.] serão obtidos de empresa especializada, parceira de projetos do Laboratório de Controle Biológico I e II ou produzidos pelo próprio Laboratório de Controle Biológico I e II.

#### Criação e obtenção de *Apis mellifera* e *Meliponini*

*Apis mellifera* - Recém-emergidas e forrageiras: Quadros de cria contendo operárias de *A. mellifera* africanizadas, ainda na fase de pupa, serão obtidas de colônias matrizes selecionadas e não selecionadas do Apiário da UNEPE Apicultura. Estes serão transportados ao Laboratório de Controle Biológico, mantendo-se as respectivas genealogias e acondicionados em sacos de papel Kraft (gramatura 50) lacrados e perfurados, mantidos em câmara climatizada, a fim de se obter a emergência uniforme das operárias para a utilização nos bioensaios, simulando o ambiente da colônia de origem. Serão utilizadas abelhas recém emergidas e abelhas forrageiras.

Para a obtenção de abelhas forrageiras, elas serão marcadas à emergência, com marcador especial e devolvidas para a colmeia de origem. Passados 21 dias, as operárias forrageiras marcadas, serão obtidas a partir de coletas realizadas na entrada das colmeias do apiário experimental da UNEPE Apicultura da UTFPR - DV. As abelhas serão capturadas em gaiolas de PVC (20 cm de altura × 10 cm de Ø) sendo, posteriormente, cobertas com tecido *voil* e transportadas ao Laboratório de Controle Biológico I, mantidas em sala climatizada (30 ± 2 °C, U.R. de 60 ± 10% e fotofase de 16/8 h C/E) até a montagem de cada bioensaio. Para alimentação de *A. mellifera* utilizada nos bioensaios será preparada pasta Cândi, misturando-se 50 g de açúcar de confeitaria com 10 mL de mel puro, até formar uma massa homogênea.

#### ***Meliponini***

As colônias de abelhas sem ferrão em colmeias comerciais tipo IMPA mantidas na Fazenda Experimental de Iguatemi – FEI (23°25'S e 51°57'O) da Universidade Estadual de Maringá. Para os experimentos operárias forrageiras e jovens serão e levados para o Laboratório de Genética Animal do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular.

As operárias jovens serão coletadas no interior da colônia e as forrageiras na entrada do ninho. Os bioensaios por exposição oral serão realizados utilizando o alimento cândi preparado com 70g de *sugar cake*: 40 g de mel, e adicionado o inseticida para cada concentração a ser testada.

Para cada tratamento, o alimento cândi contaminado com o inseticida será disposto em frascos de vidro e 15 abelhas operárias serão acrescentadas (n=15), em cada frasco, com 5 repetições (Modelo DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado). Para o controle será utilizado apenas o alimento cândi. Os frascos serão mantidos a 28 ± 2 °C, UR 70 ± 10%, por 24, 48 e 72 h. A mortalidade será avaliada, bem como o consumo do alimento. As operárias sobreviventes serão submetidas à diferentes análises.

#### Seletividade dos agentes de controle a operárias de abelhas em laboratório – análises gerais

Para todos os bioensaios desta etapa a testemunha será composta por água destilada esterilizada + Tween® 80 (0,01%) e a alimentação será composta por pasta cândi (açúcar de confeitaria e mel) e algodão embebido em água (metodologia adaptada de Brighenti et al.)<sup>43</sup>. Estes bioensaios serão mantidos em sala

climatizada ( $30 \pm 2$  °C, 16 h de fotofase e U.R. de  $60 \pm 10\%$ ) e a mortalidade das operárias avaliada a uma; duas; três; quatro; cinco; seis; nove; 12; 15; 18; 21; 24; 30; 36; 42; 48; 60; 72 e 96 h após a pulverização dos agentes de controle (Baptista et al.)<sup>44</sup>. Os agentes serão utilizados na concentração recomendada pelo fabricante ou na concentração considerada efetiva em estudos para o controle de insetos-praga de importância florestal.

#### Ação dos agentes, por pulverização direta, sobre as abelhas

Operárias (recém emergidas e/ou forrageiras) serão anestesiadas com CO<sub>2</sub>, por até 120 segundos, acondicionadas em placas de Petri e então um dos agentes será pulverizado, utilizando Torre de Potter. Em seguida, 20 operárias serão transferidas para recipientes de PVC de (20 cm de altura x 10 cm de diâmetro), sendo cada recipiente considerado uma repetição, totalizando cinco repetições por tratamento. Os recipientes serão vedados com tecido voil e sobre este será fornecido alimento constituído de pasta cãndi e um pedaço de algodão embebido em água destilada.

#### Ação dos agentes, via alimentação, sobre as abelhas

As operárias recém emergidas serão anestesiadas e acondicionadas em um recipiente de PVC vedado com tecido tipo voil, e sobre este será fornecido um pedaço de algodão embebido em água destilada. Como alimento será oferecido pasta cãndi acrescida de um agente de controle (adaptado de Libardoni et al.)<sup>45</sup>. Cada recipiente receberá 20 operárias e será considerado uma repetição, totalizando cinco repetições por tratamento/ agente.

#### Ação dos agentes, por contato, sobre as abelhas

Um agente de controle será pulverizado sobre uma placa de Petri de (15 cm Ø x 2 cm), em volume proporcional à área da placa e então disposto em câmara de fluxo laminar horizontal para a evaporação completa da água. Em seguida, 20 operárias previamente anestesiadas serão inseridas no interior do recipiente, permanecendo neste por 2 h. Na sequência as operárias serão retiradas e acondicionadas nos recipientes de PVC vedados e com alimento (metodologia adaptada de Baptista et al.<sup>44</sup> e Potrich et al.<sup>46</sup>). Cada recipiente receberá 20 operárias e será considerado uma repetição, totalizando 5 repetições por tratamento/ agente.

### ATIVIDADE 1.1.2 TESTES DE TOXICIDADE SOBRE OPERÁRIAS – OECD

#### Teste de toxicidade por via oral - OECD

Os testes de toxicidade, por via oral, de abelhas operárias de *A. mellifera* serão realizadas seguindo a metodologia proposta pela OECD, guia 213<sup>47</sup>. Operárias de *A. mellifera* com idade padronizada (aproximadamente 48 h) ficarão em jejum por 2 h. Em seguida, receberão dieta compostas por uma solução de água: açúcar (1:1), sendo os agentes diluídos nesta solução. Para isto, dez operárias serão transferidas para gaiolas de PVC. A dieta será oferecida em recipientes plásticos de 20 mL. A quantidade de dieta consumida será analisada. Após 4 h os recipientes com a dieta restante serão removidos da gaiola e substituídos por dieta sem tratamento. A mortalidade será registrada 4 h após o início do teste e, posteriormente, às 24 e 48 h, seguindo OECD<sup>47</sup>. Cada recipiente receberá 10 operárias e será considerado uma repetição, totalizando 5 repetições por tratamento/agente.

#### Teste de toxicidade por contato - OECD

Os testes de toxicidade, por contato, das abelhas operárias de *A. mellifera* será realizado seguindo a metodologia proposta pela OECD guia 214<sup>48</sup>. Operárias de *A. mellifera* receberão, individualmente, os tratamentos por aplicação tópica. Para isto, um volume de 1 µL de solução será aplicado com uma micropipeta no dorso do toráx. Após a aplicação, 10 abelhas serão transferidas para gaiolas de PVC

contendo alimento. Os demais procedimentos serão os mesmos da etapa anterior.

#### ATIVIDADE 1.1.3 AÇÃO DOS AGROTÓXICOS SOBRE LARVAS E A PRODUÇÃO DE RAINHAS

##### Ação dos agentes sobre a produção de rainhas de *A. mellifera*

O agente será pulverizado em um pano tipo gaze, que será envolto em uma placa de acrílico, acondicionada no interior de colônias tipo mini-recrias, para produção de rainhas. As rainhas serão produzidas segundo o método Doolittle<sup>49</sup>, que consiste na transferência de larvas de operárias de favo de cria para cúpulas acrílicas contendo geleia real. Trinta cúpulas serão colocadas em um sarrafo no núcleo superior de cada mini-recria. As transferências serão simples com larvas de idade e genealogias controladas, tendo as larvas entre zero e 24 h de idade. Dez dias após a transferência das larvas, as realeiras serão retiradas das mini-recrias, alocadas verticalmente em frascos de vidro de 20 mL esterilizados, contendo papel e alimento cândi, alocados em estufa própria para a criação de rainhas. A partir de então a emergência de todas as rainhas será monitorada, sendo que as rainhas recém-emergidas serão anestesiadas com CO<sub>2</sub> para analisar a interferência indireta dos agentes, determinando as medidas do peso vivo (mg), comprimento e largura de asa e abdome, comprimento, largura e altura do tórax (mm). Também será monitorado e anotado o horário da emergência das rainhas (metodologia adaptada de Potrich et al.<sup>50</sup>).

#### ATIVIDADE 1.1.4 ANÁLISE DE COMPORTAMENTO E CAPACIDADE DE VOO DE ABELHAS COM AUXÍLIO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL (IA)

##### Análise da movimentação/comportamento de abelhas após contato com os agentes

Operárias oriundas das etapas anteriores serão acondicionadas, individualmente, em placas de Petri (9 cm Ø × 1,5 cm). Esta placa será acondicionada na base de um suporte universal, no qual estará acoplado um sistema de captura de vídeo. Os vídeos serão analisados pelo Software BeeMove (em fase de registro e desenvolvido via fomento CNPq-Processo 422269/2016-6). Com o auxílio deste software será registrado o caminhamento/comportamento das operárias durante 11 min, sendo descartado o min inicial, por ser considerado o tempo de adaptação. Serão avaliados: distância percorrida, tempo de caminhamento, tempo de descanso, tempo estacionário (tempo de movimentação sem caminhamento) e velocidade de caminhamento. O delineamento será inteiramente casualizado, na qual cada placa será considerada uma repetição, totalizando 10 repetições por tratamento.

##### Análise de capacidade de voo

Após 48 h do início do experimento, 20 operárias oriundas da Etapa 3.1 serão submetidas a análise de capacidade de voo, sendo analisada a capacidade de deslocamento vertical (10 abelhas) e de retomada ao voo (queda livre) (10 abelhas). Para isso, será utilizada uma torre de voo (35 cm x 35 cm de largura e 105 cm de altura), confeccionada em madeira, contendo uma fonte luminosa no topo e uma fita métrica no seu interior. A partir da marcação da fita, será possível classificar cinco estratos<sup>51</sup>. Para análise de capacidade de voo, as abelhas serão liberadas, individualmente, na base da torre, e seu deslocamento avaliado por um min, marcando o estrato máximo atingido. Posteriormente, as abelhas serão descartadas. Para a queda livre, as abelhas serão liberadas do topo da torre e analisado o estrato em que a abelha conseguiu retomar o voo em direção a fonte luminosa, metodologia baseada em Tomé et al.<sup>51</sup>).

#### ATIVIDADE 1.1.5. AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS E HISTOLÓGICOS

##### Histologia do intestino médio de operárias

Abelhas oriundas das etapas de alimentação serão selecionadas aleatoriamente por tratamento para

a dissecação e retirada do mesêntero, totalizando 20 indivíduos por tratamento. No momento da dissecação os tecidos receberão 1 gota de fixador paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M para preservá-los da possível decomposição. As amostras do mesêntero serão fixadas em fixador paraformaldeído 4% em Tampão fosfato 0,1 M, acondicionadas em refrigerados (4 °C) por 3 h. Após as amostras serão processadas para emblocamento em Paraplast e cortadas na espessura de 2 a 7 µm em micrótomo rotativo manual. Os cortes serão corados pelo método H/E (Hematoxilina/Eosina) e fixados com Bálsamo do Canadá. As lâminas contendo os cortes serão pré-selecionadas. Serão comparados os tecidos do sistema digestório de operárias provenientes dos tratamentos e sem tratamento.

#### Avaliações morfométricas

Todas essas alterações podem ocorrer em frequências diferentes dependendo do inseticida que a abelha foi exposta. Assim, os valores de frequência poderão variar de 0 a 6, onde 0 é uma ausência da ocorrência, 2 é uma ocorrência de baixa frequência, 4 é uma ocorrência de frequência média e 6 é uma ocorrência de alta frequência<sup>52</sup>.

A frequência dos danos causados pelos inseticidas será analisada com o software Image J para contabilizar cada alteração e traçar uma lacuna onde cada uma das frequências se encaixa. As análises serão realizadas com operárias de *Apis mellifera*. As alterações celulares e da picnose serão realizadas por meio de contagem das células afetadas em relação ao número total de células da imagem com aumento de 400x; os dados serão gerados em porcentagens de acordo com Grella e colaboradores<sup>52</sup>. As análises das alterações da borda em escova, da vacuolização e da presença/altura da borda serão realizadas por meio de 3 medidas da mesma região do órgão na imagem com aumento de 400x<sup>52</sup>.

Os valores gerados após o cálculo da multiplicação do escore com a frequência de ocorrência serão submetidos a análise estatística realizando o teste de normalidade ShapiroWilk, posteriormente será empregado o teste comparativo adequado ao resultado.

#### ATIVIDADE 1.1.6 AVALIAÇÃO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As análises de MEV, serão realizadas no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) – Universidade Estadual de Maringá, com amostras de intestino médio de operárias adultas ou outros (n = 15) previamente dissecadas e fixadas em *Bouin* aquoso por 12 h. Em seguida, as amostras serão submetidas à desidratação em série crescente de álcool etílico (70% 80%, 90% e 100%). Após a desidratação, as amostras serão submetidas ao processo de secagem em ponto crítico BAL-TEC Critical Point Dryer CPD-030. Posteriormente, as amostras serão fixadas em *stubs* e recobertas com uma fina camada de ouro no metalizador BAL-TEC Sputter Coater SCD-050. As amostras serão analisadas em microscópio eletrônico de varredura modelo QUANTA 250 (FEI Company), no COMCAP-UEM.

#### ATIVIDADE 1.1.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS E EXPRESSÃO GÊNICA

##### Ação dos agentes sobre proteínas de abelhas

As abelhas sofrerão eutanásia em freezer e amostras de cabeça + tórax serão separadas. Todos os procedimentos serão realizados em temperatura entre 0 e 4 °C. Cinco amostras (cabeça + tórax) serão homogeneizadas em PBS (pH 7,5), com inibidor de protease e 0,3% de Triton X-100. O homogeneizado será centrifugado a 12.000 × g, durante 30 min e o sobrenadante será novamente centrifugado nas mesmas condições. A concentração proteica do sobrenadante será determinada pela técnica de Bradford, (1976) e ajustada a 1 mg/mL com PBS<sup>53</sup>. As leituras serão realizadas com auxílio de espectrofotômetro de absorção molecular.

### Ação dos agentes sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE)

A atividade da AChE em extratos de *A. mellifera* será medida pelo método de Ellman et al.<sup>54</sup>. As constantes cinéticas de Michaelis-Menten (Km) e o método de velocidade máxima (Vmax) serão obtidas. A cinética de inibição in vitro da AChE produzida em *A. mellifera* devido aos agentes será determinada de acordo com o método descrito por Iturbe-Requena et al.<sup>53</sup>. As leituras serão realizadas com auxílio de Espectrofotômetro.

### Expressão gênica

As análises de expressão gênica serão realizadas por meio da técnica qRT-PCR, tanto para as amostras de abelhas *A. mellifera* quanto para as espécies de abelhas sem ferrão analisadas. Além disso, esta metodologia será utilizada ainda para quantificar a expressão dos genes 16S RNA do microbioma das abelhas analisadas.

### Extração de RNA total e Síntese de cDNA

O RNA total das abelhas será extraído com Trizol<sup>®</sup> (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, na proporção de 1 mL para cada 100 mg de tecido. Inicialmente, serão homogeneizados aproximadamente 0,33 g de tecidos da cabeça e tórax das abelhas conservadas em Trizol, em seguida serão adicionados 200 µL de clorofórmio. Em seguida, o material será centrifugado por 15 min a 16,128 xg a 4 °C. A fase líquida será coletada e transferida para tubos limpos, adicionando 500 µL de isopropanol em cada tubo. Após homogeneização, as amostras serão centrifugadas por 15 min a 16,128 xG a 4° C. O sobrenadante será descartado, o precipitado lavado com 1mL de etanol 75% gelado e centrifugados novamente a 16,128 xg por 5 min. Após o descarte do sobrenadante, e secagem do pelete por 15 min, este será ressuscitado em água ultrapura livre de RNase.

A concentração de RNA extraída será mensurada via espectrofotômetro no comprimento de onda de 260 nm por meio do equipamento Qubit<sup>®</sup> 2.0 Fluor da marca Life Technologies e, utilizando o kit *Molecular Probes by Life Technologies Qubit<sup>®</sup> RNA Assay Kit 500 assays*, de acordo com o protocolo recomendado pelo fabricante.

Para confecção do cDNA, será utilizado o kit SuperScrip<sup>™</sup>TM III First-Strand Syntesis Super Mix (Invitrogen Corporation, Brasil) de acordo com as normas do fabricante. As amostras ficarão armazenadas a -20 °C até o momento do uso. Posterior a síntese do cDNA, será realizada uma quantificação deste material utilizando o equipamento Qubit<sup>®</sup> 2.0 Fluor da marca Life Technologies conforme descrito anteriormente.

### Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

Para as reações de PCR em tempo real (qRT-PCR) será utilizado o composto fluorescente SYBR GREEN (SYBR<sup>®</sup> GREEN PCR Máster Mix (*Applied Biosystems, USA*), e o equipamento StepOnePlus<sup>™</sup> Real-Time PCR System, no Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular-UEM. Os *primers* utilizados nas reações serão desenhados utilizando o site [www.idtdna.com](http://www.idtdna.com) a partir de sequências depositadas no site do “National Center of Biotechnology Information” – NCBI, para abelhas sem ferrão, em especial para genes de imunidade e detoxificação. O controle endógeno utilizado será definido posteriormente, as reações serão realizadas com um volume final de 25 µL.

### Análise Estatística

Os dados serão analisados no software R versão 4.0.2 (R Core Team, 2020). Os gráficos serão realizados utilizando o pacote ggplot2<sup>55</sup>. A hipótese de normalidade e homogeneidade de variâncias das variáveis será verificada por meio do teste Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. O teste F da análise de variância será aplicado para identificar diferenças entre os tratamentos. Observando-se significância no teste F da análise de variância, será empregado o teste de Tukey. O nível de significância de 5% será

considerado.

#### ATIVIDADE 1.1.8 ANÁLISES DA MICROBIOTA INDIVIDUAL E DE COLÔNIA

Após os tratamentos abelhas *Apis mellifera* e/ou sem ferrão serão sacrificadas, dissecadas em tubos para centrífuga de 2,0 mL, com adição de 25 intestinos, 1 mL de solução de Tween 80 a 0,01%, que serão as soluções mãe. Todo o procedimento será realizado em câmara de fluxo laminar para se evitar a contaminação do material. As amostras serão maceradas e diluídas seriadamente na proporção de 1:10 em solução salina 0,85% até  $10^{-3}$ . O conteúdo destas diluições foi inoculado em placas de Petri (100  $\mu$ L) contendo meio de cultura Tryptic Soy Agar (TSA) e espalhado com auxílio de uma alça de Drigalsk<sup>56</sup>.

O plaqueamento de cada diluição será realizado em triplicata. As placas serão incubadas a 34 °C que média da temperatura do interior dos ninhos, por um período de 24 a 48 h. Após a incubação, será realizada a contagem das colônias para determinar a concentração de bactérias cultiváveis por mL (UFC/mL) da solução mãe. O procedimento será realizado em condição de aerobiose e em garrafas de anaerobiose. O isolamento das bactérias será realizado por seleção aleatória de colônias isoladas considerando as características macromorfológicas<sup>56</sup>.

#### Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada de acordo com protocolo descrito por Specian<sup>57</sup>, com modificações. Após a extração, o DNA será eluído em 15  $\mu$ L de água ultrapura estéril. Para finalizar os microtubos serão colocados em banho-maria a 45 °C, durante 1 h para a inativação de nucleases e possíveis interferentes termolábeis da reação de PCR. Após este procedimento, os tubos contendo os DNAs serão armazenados a -20 °C<sup>56</sup>.

#### Amplificação do gene 16S RNAr

A amplificação do gene 16S RNAr será realizada utilizando dois conjuntos de primers: PO27F: 5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' e R1378: 5'-GGTGTGTACAAGGCCCGGAACG-3'' e fD1: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3' e rD1: 5'-CTAAGGAGGTGATCCAGCC 3' de acordo com Menna et al. modificado<sup>58</sup>. As condições para PCR serão: desnaturação inicial a 96 °C durante 3 min., seguido por 30 ciclos de desnaturação a 96 °C durante 45 s, anelamento a 55 °C durante 45 min, extensão a 72 °C durante 2 min. e extensão final a 72°C durante 5 min. A PCR será realizada em termociclador modelo Speed cycler 2 (Analytik Jena). A purificação dos produtos da PCR será realizada com a combinação das enzimas *Shrimp Alkaline Phosphate* (SAP) e a *Exonuclease I* (ExoI), adicionadas na seguinte proporção: 8  $\mu$ L do produto da PCR, 0,5  $\mu$ L de ExoI (10 U/ $\mu$ L) e 1  $\mu$ L de SAP (1 U/ $\mu$ L). A reação será incubada em termociclador por 1 h a 37 °C, seguida por 15 min a 80 °C, e posteriormente conservada a -20 °C<sup>56</sup>.

#### Sequenciamento a partir dos produtos de PCR

As amostras serão sequenciadas a partir dos produtos de PCR purificados no equipamento ABI-PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) pela empresa Ludwig Biotecnologia LTDA. As sequências obtidas serão avaliadas quanto à sua qualidade utilizando o software BioEdit v7.2.5. Posteriormente serão submetidas para análise de quimerismo utilizando o DECIPHER Find Chimeras web tool<sup>59</sup> (<http://decipher.cee.wisc.edu/FindChimeras.html>).

Para a identificação dos isolados, as sequências nucleotídicas encontradas serão comparadas com aquelas depositadas no banco de dados NCBI (*National Center for Biotechnology Information Website*) utilizando a ferramenta BLASTn aplicando-se o filtro '*sequences from type materials*' para maior robustez dos dados. A identificação será determinada baseando-se no melhor valor obtido quanto à similaridade<sup>56</sup>.

#### Análises filogenéticas

Para as análises filogenéticas, a construção do dendograma será realizada a partir das sequências obtidas pelo resultado do sequenciamento em conjunto com aquelas disponíveis no Genbank. As sequências que apresentarem alta similaridade serão resgatadas e alinhadas utilizando a ferramenta Muscle no software MEGA (versão 6.05). Para a construção da árvore filogenética, será utilizado o método *neighbor-joining*<sup>60</sup>, usando *p-distance* para nucleotídeos com a opção “*the pairwise gap deletion*” e bootstrap com 10.000 repetições.

#### Análises Estatísticas

As análises estatísticas serão realizadas de acordo com os tipos de avaliações e procedimentos empregados. Assim, nesta etapa haverá um breve resumo das análises mais corriqueiras a serem executadas. Para os dados de longevidade das operárias, será realizada análise de sobrevivência usando Kaplan-Meier. Os tratamentos serão comparados usando o teste de log-rank e a análise completa será realizada utilizando o pacote de sobrevivência do software R. Para o bioensaio de capacidade de voo serão utilizados Modelos Lineares Generalizados, regressão ordinal, através do teste de teste de Wald (Quiquadrado), utilizando-se o software R, pacote ordinal. Para o bioensaio de movimentação serão realizadas análises multivariadas para avaliar o comportamento e a movimentação. Demais dados serão submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de significância no programa BioEstat.

## **EIXO 2: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS E MELIPONÍCOLAS**

### **META 2.1 CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS**

#### ATIVIDADE 2.1.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS PRODUTOS APÍCOLAS DO PARANÁ, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E MELISSOPALINOLÓGICAS

Produtos apícolas produzidos por cooperativas de diferentes portes, associações de produtores e por demanda da comunidade consumidora em geral serão analisados quanto ao cumprimento dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e melissopalínológicos de acordo com a legislação vigente. Para produtos apícolas originados de abelhas *Apis mellifera* os parâmetros a serem atendidos deverão ser os da Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel, do Ministério da Agricultura e Pecuária. Para produtos apícolas originados de abelhas nativas, os parâmetros deverão ser os preconizados pela Portaria nº 63/2017, que estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel de abelhas sem ferrão para o Estado do Paraná. Produtos apícolas à base de ceras serão analisados de acordo com a Instrução Normativa nº 3/2001, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, que define o Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Cera de Abelhas. As análises também seguirão metodologias dos Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura e Pecuária, de 2022 e dos métodos físico-químicos para análise de alimentos, do Instituto Adolfo Lutz<sup>61</sup>. As metodologias serão validadas de acordo com o documento DOQ-CGCRE-008, de junho de 2020 do Inmetro, que orienta sobre validação de métodos analíticos e todo o processo analítico (da amostragem ao laudo) deverão seguir a ABNT NBR ISO 17025/2007, que estabelece os requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração.

#### ATIVIDADE 2.1.2 DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE BAIXO CUSTO E RÁPIDOS PARA DETECTAR MODIFICAÇÕES E ADULTERAÇÕES NOS PRODUTOS APÍCOLAS ALIADOS A TÉCNICAS DE IA (REDES NEURAI)

Para avaliar a autenticidade e detectar possíveis adulterações em produtos apícolas, principalmente

o mel, métodos analíticos serão desenvolvidos baseados em dois princípios: a metodologia *non-targeted* e a quimiometria. A análise *non-targeted*, também conhecida como “impressão digital” constitui abordagem que simultaneamente identifica múltiplos alvos ou pontos de dados não especificados. Essas análises tendem a ser qualitativas e são particularmente valiosas quando marcadores primários ou secundários não estão claramente definidos ou disponíveis. No contexto da autenticação de alimentos, a analogia da “impressão digital” se refere à apresentação de vários parâmetros não-direcionados que englobam informações provenientes de um método analítico. Um exemplo claro dessa analogia é a aplicação da impressão digital em méis, na qual essa abordagem é empregada para determinar a origem botânica ou geográfica ou diferenciar espécies de abelhas. Os métodos *non-targeted* envolvem a obtenção de diversos sinais analíticos por diferentes técnicas, como a espectrofotometria, a eletroquímica e métodos convencionais e o uso da quimiometria. A quimiometria utiliza métodos matemáticos, estatísticos e outros que empregam lógica formal para projetar ou selecionar procedimentos de medição e experimentos, e para fornecer o máximo de informações químicas relevantes através da análise de dados químicos. Técnicas quimiométricas auxiliam na extração dos dados. Os modelos quimiométricos extraem as informações mais relevantes e ignoram dados redundantes e simplificam o processo. A quimiometria usa modelagem matemática e estatística para reconhecer padrões e relações entre os dados altamente complexos, traduzindo-os em parâmetros utilizáveis<sup>62</sup>. Os métodos *non-targeted* geralmente empregados no campo de impressão digital de alimentos são a análise de componentes principais, PCA (do inglês “*Principal Component Analysis*”) e a análise hierárquica de grupos, HCA (do inglês “*Hierarchical Cluster Analysis*”). O PCA é uma poderosa ferramenta exploratória para reconhecimento de padrões, fornecendo um resumo de todos os dados que integram a análise estatística e busca encontrar correlação entre as variáveis para explicar a variância de um grande conjunto de variáveis<sup>63</sup> enquanto o HCA é um método de agrupamento que verifica o agrupamento de amostras e gera um arranjo hierárquico<sup>64,65</sup>. Metodologias como *machine learning* e redes neurais artificiais também são utilizadas<sup>66</sup>.

Dentro os métodos que serão utilizados estão os métodos eletroquímicos que são alternativas importante devido a possibilidade de miniaturização e portabilidade do sistema de análise, menor uso de reagentes e conseqüente menor geração de resíduos e menores limites de quantificação, implicando na possibilidade de medidas *in situ*, ou seja, no local de produção ou de armazenamento de produtos apícolas, com baixo custo. É alternativa limpa, pois o princípio utiliza prioritariamente o elétron ao invés de reagentes em excesso; alta eficiência de energia e segue os princípios da Química Verde<sup>67</sup>. Serão utilizados eletrodos de Cu/CuO, que têm sido aplicados em diversos meios para determinação de carboidratos, e representam um dos mais promissores materiais devido à sua condutividade elétrica, alta área superficial, robustez e biocompatibilidade e facilidade de preparo<sup>68</sup>. Para tanto, o eletrodo, em soluções alcalinas, resulta na formação eletroquímica de filmes de óxido metálico ou hidróxido de estados oxidativos superiores, como CuOOH, que foram propostos para atuarem como mediadores redox associados com as oxidações de açúcares redutores, como os presentes em mel<sup>69</sup>.

Nesta atividade, as metodologias *non-targeted* associadas à quimiometria e utilizando principalmente técnicas eletroquímicas serão utilizadas para detectar adulterações em mel de *Apis mellifera* com xaropes de glicose ou milho em diferentes proporções; para detectar a procedência de méis de diferentes produtores (visando localização geográfica); para avaliar o tempo de coleta e armazenamento de produtos apícolas; para diferenciar méis de abelhas nativas de diferentes espécies e verificar outras adulterações. Estas metodologias repassadas aos produtores os auxiliam a realçar a autenticidade de seus produtos. Novas técnicas desenvolvidas serão protegidas por propriedade intelectual, em parceria da

Universidade e produtores.

ATIVIDADE 2.1.3 GEORREFERENCIAMENTO DE APIÁRIOS PARA MELHORAR A RASTREABILIDADE DOS PRODUTOS E ESTUDAR O USO E OCUPAÇÃO DAS TERRAS.

Para o estudo de uso e ocupação do solo serão determinados pontos geográficos de apiários dos apicultores das regiões estudadas do Paraná, selecionados para a utilização do selo de Indicação de Procedência, a ser concedido pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Como exemplo, até 2023, 50 apicultores da Região Oeste foram contemplados com este selo, por preencherem os requisitos do Regulamento de Uso do Comitê Regulador, condição para a utilização do selo.

Quanto ao levantamento das posições geográficas dos apiários, será utilizado um receptor GNSS (Sistema de Satélite para Navegação Global) modelo Garmin Etrex. Para a espacialização dos apiários da área a ser estudada serão utilizados SIGs QGis e ArcGIs. O mapa de uso e cobertura da terra será obtido com o uso do SIG SPRING a partir de imagens do satélite Landsat-8, órbita/ponto 224/77. O classificador utilizado será o ISOSEG e a área classificada será definida a partir de um *buffer* de 3 km de cada apiário. As classes adotadas serão: agricultura, corpos de água, pastagem, vegetação e área urbana, sendo essas variáveis expressas em hectares (ha) e as áreas localizadas.

Durante o segundo ano do projeto serão coletadas informações geográficas junto a apiários georreferenciados de produtores fornecedores de amostras de mel para controle de qualidade e caracterização junto às universidades (UNIOESTE, UTFPR, UNILA). Essas informações geográficas serão coletadas por técnicos de ATER e transferidas para a UNIOESTE de Marechal Cândido Rondon, para serem incorporadas a um SIG e geoprocessadas.

Para a análise dos dados do Uso e Ocupação da Terra será utilizado o programa GENES versão 7.0<sup>70</sup>, para realização das análises multivariadas (componentes principais, de agrupamentos e de importância das variáveis) a fim de obter os resultados expressos em gráficos. Com os dados do Uso e Ocupação de Terras, avaliadas sob a caracterização das áreas em corpos d'água, agricultura, pastagem, vegetação, área urbana e a área total do *buffer*, com os dados expressos em hectare (ha), será possível o desenvolvimento de uma análise estatística a fim de evidenciar as proximidades dos apiários em relação aos cursos de água na região oeste paranaense. Por meio da análise de componentes principais obtidos de cada apiário, serão feitas as classificações das amostras de acordo com as classes de uso e ocupação, em um *buffer* de 3 km em torno dos apiários avaliados.

## META 2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS

ATIVIDADE 2.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Serão coletadas amostras de mel de abelha sem ferrão, principalmente das espécies *Scaptotrigona bipunctata*, *Scaptotrigona depilis* e *Scaptotrigona postica*, em biomas do estado do Paraná. O filtrado de cultura das amostras será extraído duas vezes com acetato de etila como solvente. O solvente será adicionado na proporção de 1:1 (v/v) e agitado vigorosamente por 20 min. A fase orgânica será separada da fase aquosa utilizando-se um funil de separação. O extrato do acetato de etila será seca com um agente dessecante e concentrada no rotaevaporador. Os extratos brutos de amostras terão sua composição analisada utilizando-se cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas. O isolamento dos compostos será realizado utilizando cromatografia em coluna com sílica gel. O sistema de eluente será determinado para cada amostra com base em testes em cromatografia de camada delgada. Os compostos isolados serão identificados utilizando técnicas espectroscópicas como espectrofotometria na região do

infravermelho médio (MID) e ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio e carbono, além de espectrometria de massas.

#### ATIVIDADE 2.2.2 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E ÍONS METÁLICOS

Todos os experimentos visando as determinações de minerais em produtos apícolas serão conduzidos no LabGati (Laboratório de Análise de Traços e Instrumentação) e CCMN (Centro de Ciências Moleculares e Nanotecnologia) da UNICENTRO. Os experimentos para identificar e quantificar os compostos orgânicos bioativos em produtos apícolas e os estudos de bioacessibilidade serão desenvolvidos no Laboratório de Cromatografia, Produtos Naturais e Síntese no CEDETEG, UNICENTRO. Por outro lado, os objetivos de desenvolver materiais contendo produtos apícolas a fim de aumentar sua bioacessibilidade e absorção no organismo humano e a avaliação das atividades farmacológicas dos produtos apícolas serão conduzidos em universidades parceiras nacionais (Universidade Federal do Ceará e Universidade Federal do Pará) e estrangeiras (Universitat Rovira i Virgili – URV – Tarragona – Espanha).

Os extratos para a avaliação de compostos bioativos serão obtidos através da imersão das amostras de pólen e própolis de abelha, previamente moídos, em solvente orgânico (metanol ou etanol 95% v/v) por 72 h em temperatura ambiente. Após, a solução será filtrada e centrifugada a 2700 rpm por 10 min a 4 °C. O extrato será armazenado a -20 °C até a análise.

A determinação de compostos orgânicos presentes nos extratos de produtos apícolas será conduzida em Sistema ACQUITY UPLC – MS/MS com espectrômetro de massa Xevo – TQD triplo quadrupolo, com fonte de ionização por eletrospray Z spray™ (Waters, Milford, EUA). Os parâmetros de separação cromatográfica e de detecção serão previamente otimizados para cada matriz. Os métodos analíticos desenvolvidos serão validados quanto a figuras de mérito como linearidade e faixa de trabalho, seletividade, exatidão, precisão intermediária, limites de quantificação e de detecção, seguindo recomendações de órgãos regulamentadores como INMETRO (DOQ-CGCRE-008) e ANVISA (RDC 166 – Agência de vigilância - RESOLUÇÃO RDC Nº 166, 2017).

A determinação de metais essenciais nos produtos apícolas será realizada através do método gravimétrico conforme metodologia adaptada da ISO 936:1998 da Organização Internacional para Normalização descrita no Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As leituras dos minerais serão realizadas por espectroscopia de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) em um equipamento da marca Perkin Elmer Optima 8000.

#### ATIVIDADE 2.2.3 ESTUDO DA BIOACESSIBILIDADE E BIODISPONIBILIDADE (IN VITRO) DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS BIOATIVOS E MINERAIS PRESENTES;

Os ensaios de bioacessibilidade dos extratos de produtos apícolas serão realizados através de procedimentos de digestão gastrointestinal in vitro, com uso de enzimas específicas do processo de digestão (pepsina, pancreatina e amilase) e sucos biliares, todos adquiridos comercialmente, a fim de simular o suco gástrico e intestinal. Uma quantidade de amostra será incubada com agitação durante 0,5 – 4 h a 37 °C em solução que simula o suco gástrico (pepsina, cloreto de sódio e ácido clorídrico). Após esse período, a solução terá seu pH neutralizado e uma nova incubação será realizada com a solução que simula o suco intestinal (pancreatinina, sais de bile, dihidrogenofosfato de amônio e hidróxido de sódio). Posteriormente, as soluções resultantes serão diluídas em meio próprio para quantificação de compostos orgânicos e de minerais.

As determinações de compostos orgânicos específicos liberados nos fluidos serão realizadas por UPLC-MS/MS. Já a bioacessibilidade total dos extratos será estimada pelos métodos espectrofotométricos de Folin Ciocalteu, complexação  $AlCl_3$ , ensaios DPPH e CUPRAC<sup>71</sup>.

#### ATIVIDADE 2.2.4 DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS COM PRODUTOS APÍCOLAS PARA MELHORAR SUA BIOACESSIBILIDADE E ABSORÇÃO NO ORGANISMO HUMANO

A biodisponibilidade de componentes bioativos em alguns produtos apícolas, como o pólen, pode ser restringida por uma parede externa dura (exina), contendo componentes bioativos que envolvem o grânulo de pólen, podendo vir a formar complexos covalentes com os componentes estruturais da parede celular (intina). Nesse sentido, a fermentação do pólen utilizando a kombucha, é um processo que combina a utilização de um organismo simbiótico composto por bactérias e leveduras, para transformar o pólen em um alimento com propriedades benéficas potencializadas, visto que se espera que a fermentação auxilie na biodisponibilidade de compostos bioativos devido à quebra da parede celular do pólen, além de enriquecer a bebida fermentada utilizada. Um planejamento experimental para a avaliação da eficiência do processo de fermentação sobre o pólen apícola será aplicado com fatores tais como temperatura, dosagem de pólen, de microrganismos, tempo etc.

Os extratos de própolis serão complexados utilizando ciclodextrinas nativas ( $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -CD) e modificadas (hidroxialquiladas, metiladas, carboxiladas e aminadas) usando procedimentos sintéticos descritos por Uribe, et al, 2022). Os complexos serão preparados por sonicação dos extratos em soluções de ciclodextrinas, seguido de filtração em membrana de 0,45  $\mu$ m, liofilização do filtrado e secagem a vácuo. Alguns fatores experimentais que podem afetar a formação de complexos serão estudados como razão própolis/massa CD, período de sonicação, pH, entre outros. Experimentos de controle independente usando apenas misturas físicas de soluções de extratos e ciclodextrinas serão preparados para comparação. A Eficiência de Encapsulação (EE) será estimada por métodos espectrofotométricos pela determinação dos teores de fenólicos e flavonoides totais.

#### ATIVIDADE 2.2.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTITUMORAL.

Os extratos dos produtos apícolas e os produtos resultantes formulados para melhorar a bioacessibilidade serão avaliados em diversos ensaios farmacológicos visando conhecer seu potencial antimicrobiano, antioxidante e anti-inflamatório. A atividade antibacteriana dos extratos e dos produtos formulados será avaliada em cepas padrão: (i) Bactérias Grampositivas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Micrococcus luteus* (ATCC), e (ii) Gram -bactérias negativas, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25853) e *Escherichia coli* (ATCC 8739). Os ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) serão realizados usando o método de microdiluição em caldo Mueller-Hinton (MHB) conforme descrito pelo CLSI 2012. Ensaio antifúngico serão realizados para estimar a atividade antifúngica usando cepas padrão de *Candida* e/ou isolados hospitalares e expressas como concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM).

A capacidade antioxidante total será avaliada utilizando os ensaios espectrofotométricos de DPPH e CUPRAC<sup>71</sup>.

As melhores formulações de produtos apícolas serão utilizadas para a realização de ensaios farmacológicos *in vivo* e os resultados comparados com os extratos. As propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes serão avaliadas através do modelo de Edema de Pata Induzido por Dextran e/ou por Carragenina conforme descrito por Menezes e colaboradores<sup>72</sup>. Será determinada a atividade antioxidante

(TAC, DPPH, FRAP e ORAC), e avaliados os biomarcadores antioxidantes enzimáticos (GSH, SOD, CAT) e parâmetros oxidativos através da formação ou redução de produtos oxidativos, e peroxidação lipídica das nanopartículas contendo própolis.

### **META 2.3 VALORIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS REGIONAIS**

ATIVIDADE 2.3.1. IDENTIFICAÇÃO DA ORIGEM BOTÂNICA DO MEL E/OU PRÓPOLIS E/OU GEOPRÓPOLIS PRODUZIDOS POR DIFERENTES ESPÉCIES DE ABELHAS;

#### Espécies

Neste estudo serão coletados pólen armazenados nos ninhos de, pelo menos, três espécies de abelhas, sendo *Apis mellifera*, ao menos uma espécie nativa de abelha solitária e ao menos uma espécie nativa social. A determinação das espécies nativas a serem utilizadas dependerá da localização de ninhos destas espécies nas regiões propostas para o estudo.

#### Áreas de estudo

No trabalho serão coletados pólen de ninhos localizados na Floresta Ombrófila Mista (Região de Guarapuava) e na Floresta Estacional Semidecidual (local a ser definido, podendo ser região de Cascavel, Maringá ou Londrina). A definição do local de coleta na Floresta Estacional Semidecidual dependerá da localização de ninhos das espécies em estudo nas regiões.

#### Amostragem e extração de DNA

Em cada formação vegetal serão coletados pólen de ao menos nove ninhos de cada espécie, totalizando ao menos 27 ninhos amostrados. Este número poderá ser aumentando no caso de facilidade de encontrar ninhos das espécies em cada região a serem estudadas. Cada conjunto de pólen oriundo de três ninhos serão misturados e considerado uma amostra para o sequenciamento da região ITS2 do rDNA usando os *primers* ITS-S2F e ITS4R conforme descrito por Sickel<sup>73</sup> e Campos et. al. (2021). A preparação de cada amostra e a extração do DNA será realizada conforme descrita por Martins et. al. (2023).

#### Preparação da biblioteca e sequenciamento e identificação das espécies por bioinformática

Os produtos de PCR de cada amostra serão normalizados para garantir que as concentrações das bibliotecas sejam equivalentes entre as amostras. O produto da PCR normalizado será quantificado em fluorômetro e os comprimentos dos fragmentos serão determinados no Bioanalyzer (Agilent Technologies, CA, EUA). A preparação da biblioteca seguirá o Guia de Preparação de Amostras da Illumina de acordo com o kit utilizado. O sequenciamento será realizado no sistema MiSeq da Illumina no Instituto de Pesquisa do Câncer de Guarapuava. Após obtidos as sequências e filtragem das com boa qualidade, a determinação de quais espécies de plantas as mesmas são derivadas será realizada por análise de bioinformática. As sequências serão comparadas com sequências depositadas no banco de dados de sequências ITS2 de plantas com flores. Todas as análises de bioinformática serão conduzidas conforme descrito por Martins et. al.<sup>74</sup>.

#### Análise estatística

As diferenças entre as plantas visitadas por cada espécie de abelha estudada em cada formação vegetal serão determinadas pela análise PERMANOVA. Serão calculados também os índices de rede das espécies de abelhas para determinar sua sobreposição e complementaridade nos recursos vegetais visitados. As análises estatísticas serão realizadas utilizando o pacote R.

ATIVIDADE 2.3.2. PROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS BENÉFICOS NO MEL E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS

O pH das amostras de mel (20% m/v base seca) será determinado pelo método potenciométrico (pHmetro), calibrado com soluções tampão padrão. A densidade das amostras de mel será determinada pelo método descrito no manual de Métodos físico-químicos para análise de alimentos.

A atividade antimicrobiana das amostras de mel será avaliada de forma qualitativa, utilizando o método de Bauer e Kirby. O teste de disco-difusão consiste em depositar em uma placa de Petri, uma quantidade de ágar do tipo Muller-Hinton, no qual será feito a cultura da bactéria patogênica. Posteriormente, discos contendo as amostras de mel a serem testados serão aderidos na superfície do ágar, serão, então, observadas as medidas do halo formado, indicando resistência total, intermediária ou suscetibilidade total da bactéria, respectivamente.

Alíquotas de mel coletadas de forma estéril serão semeadas na superfície de ágar Luria Bertani (LB) e incubadas a 35 °C por 24 h. Após este período, colônias isoladas serão coletadas e purificadas pelo método de esgotamento de placas.

Para avaliar a efeito de substâncias antagonistas produzidas pelos isolados bacterianos, serão conduzidos experimentos de disco difusão descrito por Bauer et al.<sup>75</sup>. Linhagens de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* serão pré-cultivadas em caldo LB; já os isolados bacterianos do mel serão cultivados separadamente em caldo LB para ser centrifugado posteriormente, o sobrenadante será filtrado em membrana para obtenção de um extrato livre de células (ELC). Esse extrato será adicionado às placas com cultivo de *E. coli* e *S. aureus*. As placas serão incubadas por um período de 24-48 h a 35 °C. A atividade antibacteriana será definida pelo tamanho do diâmetro (mm) da zona de inibição formada em torno do poço.

Alíquotas do extrato livre de células de cada isolado serão adicionadas em frascos contendo caldo LB, em seguida serão adicionadas culturas de *E. coli* e *S. aureus* nos respectivos frascos em triplicata. As leituras do crescimento serão realizadas por espectrofotometria.

A determinação quantitativa da CIM do extrato livre de células será feita utilizando a metodologia de microdiluição em caldo em placas de Elisa estéreis, com 96 poços. Os testes são realizados segundo padronização estabelecida pelo Clinical e *Laboratory Standards Institute*, com adaptações.

A análise da determinação da CIM dos méis testados, é feita visualmente através da coloração avermelhado no fundo do poço, após a adição de um agente corante com propriedades redox. Ademais, para maior precisão no trabalho, será feito em triplicata. Como controle será utilizado o antibiótico ampicilina, além de, analisar somente o meio de cultura para expor a esterilidade dele.

A confirmação das espécies isoladas do mel será elaborada por meio da extração de DNA, PCR com amplificação da região 16S rDNA e sequenciamento do produto do PCR das bactérias. A extração do DNA das bactérias será realizada com o kit *Wizard Genomic DNA Purification* (Promega®, USA).

A avaliação da atividade antimicrobiana será realizada pelo método descrito por Bauer e Kirby<sup>2</sup> que fornece resultados qualitativos, de acordo com CLSI; M2-A8<sup>76</sup>, com algumas modificações. Na cabine de segurança biológica, primeiramente será preparado o inóculo, onde serão selecionadas três colônias bem isoladas, para serem transferidas para um erlenmeyer de 50 mL contendo caldo Mueller-Hinton (MH). As bactérias serão incubadas em agitador orbital por 24 h a 37 °C, posteriormente o inóculo foi padronizado com base na escala de 0,5 de McFarland. Na sequência, com o uso de um *swab* de algodão estéril, este será submerso na suspensão ajustada e aplicado em toda a superfície da placa de ágar MH sendo que em sequência será adicionado discos de papel filtro (6 mm de diâmetro) impregnados com um volume de cada composto para obter uma massa de 5 mg no disco, enquanto para o disco de ampicilina comercial (controle) com concentração de 10 µg, e as placas serão então incubadas na estufa a 37 °C. A leitura do

resultado será realizada visualmente após 24 h de crescimento, se houve ou não a geração de halos de inibição, caso positivo, serão medidos os diâmetros do disco e do halo.

A determinação quantitativa da CIM do extrato livre de células será feita utilizando a metodologia de microdiluição em caldo em placas de Elisa estéreis, com 96 poços. Os testes são realizados segundo padronização estabelecida pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*, com adaptações.

A análise da determinação da CIM dos compostos isolados, é realizada visualmente através da coloração avermelhada no fundo do poço, após a adição de um agente corante com propriedades redox. Ademais, para maior precisão no trabalho, será feito em triplicata. Como controle será utilizado o antibiótico ampicilina, além de, analisar somente o meio de cultura para expor a esterilidade dele.

#### ATIVIDADE 2.3.3. ANÁLISE PARA SOLICITAR SELO DE *DO* PARA MÉIS QUE JÁ POSSUEM *IP* DO PARANÁ

Os selos de Indicação Geográfica, concedidos pelo INPI, podem agregar valor aos produtos das abelhas, como ocorre em diversos produtos de outras origens, em todo o mundo. Existem duas modalidades principais de selos, o de Indicação de Procedência (IP) e o de Denominação de Origem (DO), ambos importantes, porém, como características um pouco distintas. Basicamente o de IP indica a qualidade de um produto e a tradição da região na sua produção. Já para a obtenção do selo de DO, as características do produto precisam estar atreladas ao seu local de origem. Como também já mencionado, o mel da região Oeste do Paraná obteve o direito à utilização do selo de IP em 2017. O objetivo do projeto, neste tópico, é a solicitação e encaminhamento do pedido de DO, junto ao INPI, para os méis desta região.

A solicitação deste selo será realizada por alguma Associação ou Cooperativa interessada e elegível, juntamente com o SEBRAE, IES e demais Instituições parceiras. Para a montagem desse processo são necessárias várias etapas burocráticas relacionadas à comprovação da idoneidade da entidade requerente e dos produtores a ela vinculados, das parcerias estabelecidas, dos critérios de boas práticas na produção e armazenamento dos produtos, da sua produção justa e sustentável, bem como da qualidade dos produtos, comprovada por meio de análises laboratoriais e da publicação de artigos em eventos e periódicos. Para esse selo, especificamente, a meta será a comprovação da relação entre as características físico-químicas e botânicas do mel e as características fitogeográficas de sua região de origem, estatisticamente, utilizando informações das análises já descritas, no mel e nas informações geográficas.

A montagem do processo será realizada pelo bolsista técnico, com o apoio do SEBRAE, de forma participativa com as instituições parceiras, por meio de reuniões periódicas, utilizando a expertise obtida para a solicitação e implantação do selo de IP conquistado na região.

#### ATIVIDADE 2.3.4. AVALIAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO SELO DE CERTIFICAÇÃO ORGÂNICA

Para a obtenção da certificação orgânica é necessário o cumprimento de várias condições pelo produtor, desde a legalidade da propriedade, dos trabalhadores envolvidos, das características do solo e da água, dos processos de produção, da qualidade dos produtos, entre outros, especificados na legislação nacional e internacional.

Para que essas condições sejam atestadas, existem algumas formas de controle, que atuam de formas diversas, com o objetivo da obtenção da certificação orgânica: o Controle Social, a Certificação Participativa e a Certificação Auditada.

No caso específico da avaliação para obtenção do selo de certificação orgânica do mel neste projeto, será realizado um levantamento de produtores interessados, junto às Associações e Cooperativas, nas regiões do Paraná.

Simultaneamente será realizado o contato com profissionais que já atuam na área de certificação orgânica, como os do Programa Paraná Mais Orgânico, da Secretaria Estadual de Ensino Superior, Ciência e Tecnologia (SETI), universidades estaduais e IDR e da Rede Ecovida, que atuam em ambas as regiões.

Posteriormente serão agendadas reuniões entre os produtores e estes profissionais, visitas aos apiários, meliponários, Unidades de Beneficiamento de produtos, para realização de Estudos de Caso. Após estes processos serão realizadas as adequações necessárias para o preenchimento dos requisitos necessários à certificação, o que pode exigir um tempo maior ou menor. Então são realizadas as conferências destas condições e o encaminhamento das documentações para a obtenção da certificação orgânica.

Se aprovada a certificação, serão realizadas as vistorias periódicas, a cada seis meses, para a manutenção da certificação, ou, se reprovada, serão realizadas as alterações necessárias.

Todo esse processo, embora realizado pelos profissionais ligados à área de certificação orgânica, será acompanhado por membros do projeto (bolsistas, docentes ou técnicos) em cada região, os quais farão toda a ligação entre as partes interessadas, a logística, o acompanhamento do andamento do processo e a divulgação dos resultados.

### **EIXO 3: MELHORAMENTO GENÉTICO**

#### **META 3.1: MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS *APIS MELLIFERA* AFRICANIZADA**

##### ATIVIDADE 3.1.1 MELHORAMENTO DA PRODUÇÃO DE MEL POR MEIO DE MARCADORES GENÉTICOS

A Equipe da Universidade Estadual de Maringá desenvolve estudos com marcadores moleculares, determinando as variantes da MRJP3 para a produção de geleia real e, mais recentemente, aplicando à produção de mel. A identificação molecular é trabalhosa e cara, por isso, dentro do Melhoramento Genético Animal, a melhor estratégia é realizá-la em um sistema contínuo de seleção, em todas as gerações produzidas.

Durante todo o desenvolvimento do projeto piloto de melhoramento genético para a produção de mel, serão coletadas amostras de rainhas filhas das matrizes selecionadas para a identificação de marcadores moleculares, o que trará para o processo um refinamento de informações. Para isso, a cada geração serão avaliadas de 15 a 20 matrizes quanto à presença de variantes de MRJP3 e demais marcadores moleculares, e serão comparadas com os resultados da avaliação genética. Dessa forma, cria-se um sistema de monitoramento do processo de seleção e produção a campo, de maneira a trazer maior acurácia sobre a seleção de rainhas com potencial genético para a produção de mel.

##### ATIVIDADE 3.1.2 MELHORAMENTO DA PRODUÇÃO DE MEL E ROBUSTEZ DE ABELHAS POR MEIO DE AVALIAÇÃO GENÉTICA ANIMAL

Para o efetivo funcionamento de um Programa de Melhoramento Genético de Abelhas, uma série de estratégias são necessárias como a definição de objetivos, critérios de seleção, características a serem mensuradas, coleta e análise de dados para prever o mérito genético, reprodução, acasalamentos e planejamento sobre o ganho genético considerando taxas de consanguinidade. Em várias espécies animais todos esses pontos já estão bem estruturados, e os Programas de Melhoramento Genético já estão em pleno funcionamento. No entanto, em abelhas não é bem assim. Cada uma dessas estratégias precisa ser elaborada e testada para que futuramente venham compor com sucesso um sistema completo de melhoria

genética, ou seja, operante a campo. Para isso, esse conjunto de estratégias que precisa ser elaborado e trabalhado de maneira conjunta aos integrantes desta cadeia produtiva.

Nesse sentido, o objetivo destas metas é ampliar o desenvolvimento de discussões e estratégias que possibilitem o estabelecimento de um PMGA nacional duradouro e eficiente sob o ponto de vista da produção animal. Serão elaboradas metas de curto, médio e longo prazo, junto a apicultores, pesquisadores, técnicos extensionistas e autoridades governamentais para que o país possa ter claramente um plano de execução para o estabelecimento de um PMGA.

Um projeto piloto, com duração média de dois anos será realizado com o objetivo de modelar todo o processo de coleta de dados, treinamento de apicultores, avaliação genética, seleção dos melhores materiais, reprodução, aplicação de técnicas moleculares, estabelecimento do material selecionado a campo e monitoramento de resultados. Ao final deste período, os resultados alcançados, assim como todas as estratégias de sucesso e os gargalos serão apresentados aos integrantes da cadeia produtiva da apicultura nacional, com o objetivo de ampliar as discussões e refinar as metas almejadas.

As atividades previstas serão realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná e Universidade Estadual de Maringá, cada uma dentro de sua expertise, porém com intercâmbio de conhecimento, ideias e de pessoas.

Concomitante ao processo acima citado, métodos para estimar a qualidade de rainhas produtoras de rainhas filhas e de zangões serão desenvolvidos de maneira a estabelecer o monitoramento sobre o impacto do processo de seleção. As Atividades 3.1.3 e 3.1.4 apresentam a estrutura inicial para este monitoramento.

ATIVIDADE 3.1.3 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE RAINHAS *APIS MELLIFERA* AFRICANIZADAS EM ESTOQUES COMERCIAIS

ATIVIDADE 3.1.4 PRODUÇÃO DE ZANGÕES E SÊMEN PARA PROGRAMAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS

No período de dois anos, os três principais produtores e fornecedores de rainhas africanizadas para o Estado do Paraná enviarão para a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Dois Vizinhos (UTFPR-DV), um total de 450 rainhas jovens. As rainhas à senescência serão fornecidas por apicultores vinculados ao projeto, conforme a programação da troca/substituição comercial. De modo a caracterizar a qualidade reprodutiva do estoque utilizado no Estado, as rainhas jovens e à senescência serão avaliadas quanto aos parâmetros morfométricos externos, internos e análise de expressão gênica como segue: 1) Pesagem e mensuração de morfometria externa de rainhas; 2) Pesagem de espermateca e ovários; 3) Histologia de ovários e contagem de ovariolos; 4) Qualidade espermática de esperma armazenado na espermateca; 5) Análise de expressão gênica para qualidade sanitária.

Imediatamente à chegada na UTFPR-DV, as rainhas serão pesadas (mg) em balança de precisão (SHIMADZU/AX-200, Quioto, Japão) de 0,001g, e mensuradas com paquímetro digital Resolução pol/mm: 0,0005/0,01 (MTX, Moscou, Rússia) quanto ao comprimento corporal (mm), comprimento e largura do abdome e asas (mm). Inicialmente será removida a cabeça, pernas e asas. Com auxílio de um Microscópio Estereoscópio (DI-224, Piracicaba, São Paulo-Brasil) o tórax e o abdome serão fixados ventralmente com alfinetes entomológicos em uma placa de *Petri* contendo cera de abelha e dissecionados com o auxílio de uma pinça (tipo relojoeiro 12cm reta) e tesoura Cirúrgica Oftálmica Capsulotomia Curva (Vannas IM-283AA, Kazan, Rússia). A espermateca e ovários serão utilizados para as análises de qualidade reprodutiva enquanto o corpo gorduroso e o cérebro serão utilizados para as análises de expressão gênica relacionadas ao estresse térmico.

Pós dissecção, a espermateca será transferida para microtubos contendo 250 µL de solução de

Ringer a 36 °C. Após ruptura da parede epitelial da espermateca utilizando uma tesoura Castroviejo curva em estereomicroscópio, a espermateca será lavada em solução de Ringer a 36 °C para coleta dos espermatozoides e o volume final da solução de sêmen ajustado para 1 mL na mesma solução e gentilmente misturado por inversão do microtubo. Brevemente, a concentração de espermatozoides será realizada em câmara hematimétrica de Neubauer. As células espermáticas serão contadas em 5 quadrados ( $0.1 \text{ mm}^3 = 0.1 \text{ }\mu\text{L}$ , cada), presentes nos quatro cantos e no centro do hemocitômetro, sendo a contagem repetida duas vezes em microscópio óptico de luz, utilizando aumento de 400x. Para o cálculo do total de espermatozoides será utilizada a seguinte fórmula:

Para a análise de viabilidade espermática, 2  $\mu\text{L}$  de 1 mg/mL de iodeto de propídeo (Invitrogen) e 1  $\mu\text{L}$  de 0,5 mg/mL de Hoechst 33342 (Invitrogen H1399) serão adicionados a 100  $\mu\text{L}$  da suspensão de espermatozoides em solução Ringer a 36°C. Após incubação a 36 °C no escuro por 20 min, uma amostra homogênea de 15  $\mu\text{L}$  será colocada entre lâmina e lamínula e avaliada em microscópio de fluorescência em um aumento de 400x. Para visualização do total de células, a marcação com Hoechst 33342 será visualizada com excitação de 350 nm e emissão de 461 nm, enquanto células mortas serão marcadas com iodeto de propídeo e verificadas com uma excitação 488 nm de e emissão de 617 nm. Para o cálculo da porcentagem de células mortas serão contadas pelo menos 200 células por amostra a partir de imagens processadas. Os ovariolos esquerdo e direito serão pesados (mg) em balança de precisão (SHIMADZU/AX- 200, Quioto, Japão). Posteriormente serão preparados para o procedimento histológico e contagem de ovariolos segundo Raulino-Domanski et al.<sup>77</sup>.

Será comparada a expressão de genes marcadores de estresse térmico HSP70, HSP90, XP\_026296654.1 e XP\_395122.1. Para tal, RNA total será extraído de corpo gorduroso e cabeça (90 amostras de cada tecido) criopreservados em 1ml de Trizol (Invitrogen) a -80 °C. Será utilizado o método de extração com Trizol de acordo com recomendações do fabricante. A síntese de cDNA será realizada com o kit GoScript™ Reverse Transcriptase (Promega) enquanto a quantificação será realizada por reação de PCR em tempo real utilizando o kit GoTaq® qPCR Master Mix (Promega) com volume de reação de 10  $\mu\text{L}$ .

Para todas as amplificações, será utilizado um programa de 3 passos: 95 °C/ 15 s, 55 °C/ 15 s e 68 °C/ 20 s por 45 ciclos, seguido da curva de dissociação, através do sistema de detecção de PCR em tempo real CFX96 (Bio-rad). Como controle negativo da reação será utilizado o mix da reação e os primers, sem adição do cDNA. Após padronização e verificação da eficiência das reações, as razões de expressão dos genes alvo (HSP70, HSP90, XP\_026296654.1 e XP\_395122.1) serão normalizadas pela razão da expressão dos controles endógenos (GAPDH e ACTB) de acordo com a seguinte fórmula:  $\Delta\text{Ct} = \text{Ct do gene-alvo} - \text{média geométrica dos controles endógenos}$ , sendo Ct o ciclo em que cada curva de amplificação passa pelo threshold.

Os dados de concentração e viabilidade espermática serão transformados quando não apresentarem distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste Brown-Forsythe), e então submetidos à ANOVA. Será verificado o efeito de produtor (3 níveis), família (3 níveis) e status reprodutivo (2 níveis) e interações. Para comparação das médias entre grupos será utilizado o teste de Tukey com nível de significância de 5%. Serão consideradas variáveis dependentes a concentração e viabilidade espermática e número de ovariolos. Produtor, família e status reprodutivo serão consideradas variáveis independentes. As análises serão realizadas utilizando o software Prism Graphpad para MacOS. Os dados serão apresentados em valores de média  $\pm$  erro padrão da média.

Para a comparação da expressão dos genes-alvo serão utilizados os resultados normalizados pelos genes endógenos ( $\Delta\text{Ct}$ ) de cada grupo. Os dados serão transformados quando não apresentarem distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste Brown-Forsythe), e

então submetidos à ANOVA. Será verificado o efeito de produtor (3 níveis), família (3 níveis) e status reprodutivo (2 níveis) e interações. Para comparação das médias entre grupos será utilizado o teste de Tukey com nível de significância de 5%. Serão consideradas variáveis dependentes  $\Delta Ct$  para cada gene-alvo. Produtor, família e status reprodutivo serão consideradas variáveis independentes. As análises serão realizadas utilizando o software Prism Graphpad para MacOS. Os dados serão apresentados em valores de média  $\pm$  erro padrão da média e em escala logarítmica (*fold-change*) para comparação grupo a grupo ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ).

A produção de zangões será desenvolvida por meio de rainhas selecionadas, com padrão de qualidade avaliado. A produção de zangões será realizada por meio de estímulo alimentar e de manejo em colônias de dez quadros, de maneira a controlar a data da emergência desses insetos. A emergência dos machos será monitorada, eles serão marcados e devolvidos em colônias criadoras de zangões. Em torno de 45 dias após a reintrodução dos machos em colônias criadoras, os zangões terão o sêmen coletado e avaliado quanto aos aspectos quantitativos e qualitativos. Este processo será um piloto para o desenvolvimento de um método de produção e coleta de sêmen de maneira a possibilitar a utilização de informação de pedigree completo na avaliação genética de abelhas.

#### EIXO 4: DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE ABELHAS PARANAENSES

##### META 4.1 DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS

ATIVIDADE 4.1.1 TAXONOMIA DE ESPÉCIES DE ABELHAS, VISANDO A DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES E CONSTANTE ATUALIZAÇÃO DA LISTA DE ESPÉCIES, AMEAÇADAS E SUA DISTRIBUIÇÃO PARA O ESTADO

Nossa pesquisa focará no estudo dos exemplares de abelhas depositados em instituições tanto no estado do Paraná quanto em nível nacional, com especial atenção à Coleção Entomológica Pe. Jesus S. Moure. Para enriquecer nosso acervo, planejamos obter novos exemplares por meio de expedições de campo em áreas naturais e em ambientes antropizados dentro do estado, além de receber amostras de outras fontes. Para embasar nossa investigação sobre a taxonomia e filogenia desse grupo, iremos gerar dados morfológicos por meio de minucioso exame em microscópio estereoscópico. Além disso, planejamos obter dados genômicos por meio de sequenciamento de baixa cobertura. As matrizes resultantes desses dados moleculares serão submetidas a análises de máxima verossimilhança e de inferência bayesiana para obter filogenias, tanto com dados concatenados quanto utilizando técnicas de filogenia de genes (*gene-trees*). Além dos benefícios diretos para o projeto, os genomas parciais gerados terão potencial para contribuir em futuras investigações relacionadas a diversos aspectos da biologia, fisiologia e comportamento das espécies de abelhas que estão sendo sequenciadas, aumentando assim o acervo de dados genômicos disponíveis para a fauna presente no Paraná. Para facilitar a identificação das espécies, estamos planejando desenvolver chaves de identificação. Os dados de ocorrência obtidos serão compilados em uma base de dados e analisados por meio de mapas de distribuição. Adicionalmente, a lista de espécies será avaliada à luz dos critérios da IUCN para a avaliação do risco de extinção e, conseqüentemente, categorização das espécies.

ATIVIDADE 4.1.2 CONTRIBUIÇÃO PARA A IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO CRIADAS EM MELIPONÁRIOS

Serão recebidos exemplares de abelhas-sem-ferrão de diferentes meliponários para identificação

utilizando ferramentas morfológicas e moleculares descritas acima. Também, conforme indicado para a atividade 4.1.1., serão comparados com exemplares de coleções e de coletas em regiões do estado. Pretendemos criar um guia ilustrado que facilite a identificação de espécies por meliponicultores.

#### ATIVIDADE 4.1.3 VERIFICAÇÃO COMO O TAMANHO, FORMA E ASSIMETRIA DAS ASAS, DIVERSIDADE DAS ESPÉCIES E INTERAÇÕES COM PLANTAS INFLUENCIADA PELA ESTRUTURA DA PAISAGEM E PELO USO DA TERRA

Para compreendermos a resposta das abelhas em relação à paisagem e ao uso do solo, planejamos realizar amostragens em diferentes gradientes naturais e antropogênicos. A identificação das abelhas será conduzida com o auxílio de literatura especializada, acervos existentes e consulta a especialistas renomados na área. Técnicas filogenômicas e metagenômicas serão empregadas para auxiliar na identificação de abelhas e suas fontes florais. Em cada gradiente, estabeleceremos pontos amostrais independentes, coletando dados sobre o uso do solo e métricas que descrevam a paisagem, considerando o impacto de diferentes zonas-tampão. Estes dados serão utilizados para calcular métricas que servirão como variáveis preditoras. As variáveis de resposta serão avaliadas em diversos níveis. No âmbito das comunidades de abelhas, calcularemos métricas de riqueza e diversidade taxonômica, funcional e filogenética. Para entendermos as populações, selecionaremos espécies representativas de abelhas, obtendo métricas relacionadas ao tamanho e forma corporal por meio de análises morfométricas tradicionais e geométricas. No que se refere às interações nas redes, identificaremos as plantas envolvidas e realizaremos análises de redes bipartidas para extrair métricas descritivas. A análise dos dados será conduzida através de modelagem estatística, empregando abordagens como modelos lineares generalizados.

#### ATIVIDADE 4.1.4 DETECÇÃO DE METAIS PESADOS NO MEL DE ABELHAS-SEM-FERRÃO EM AMBIENTE URBANO VISANDO A SEGURANÇA ALIMENTAR E AMBIENTAL

Com o objetivo de detectar a presença de metais pesados nos méis das colônias de abelhas-sem-ferrão, iremos coletar 5,0 g de mel em pontos amostrais distintos, abrangendo gradientes naturais e áreas antropizadas em todo o estado. As amostras serão cuidadosamente armazenadas em tubos Falcon de 15 mL e mantidas em freezer para preservação. O método de cinza seca será empregado para a detecção de metais pesados nas amostras de mel, utilizando a técnica de Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido (ICP-OES). As amostras serão submetidas a um processo de secagem em estufa a 100°C por 24 h, seguido por queima até atingirem o estado de cinza em estufa a 550 °C por 9 h no dia subsequente. O resíduo de cinza branco resultante será diluído em ácido nítrico a 5% (p/v) e ajustado para um volume final de 50 mL com água. Posteriormente, as amostras passarão por um duplo processo de filtração para assegurar a remoção completa de pequenos precipitados antes da análise utilizando ICP-OES. Para cada tipo de metal, serão utilizados os comprimentos de onda apropriados. As concentrações dos metais detectados serão submetidas a análises estatísticas rigorosas. Faremos comparações com os níveis permitidos conforme a legislação estadual e federal, além de considerar os parâmetros estabelecidos por regulamentações internacionais. Essa análise minuciosa permitirá uma avaliação precisa dos níveis de contaminação por metais pesados nos méis das abelhas-sem-ferrão, fornecendo informações relevantes para o meio ambiente e segurança alimentar.

#### ATIVIDADE 4.1.5 AVALIAÇÃO DE PARQUES E JARDINS URBANOS E ESTRUTURAS AMIGÁVEIS ÀS ABELHAS SOLITÁRIAS

Para a avaliação de parques e jardins serão inventariadas espécies (identificadas ao nível de

morfoespécies) de abelhas visitantes de flores em parques e jardins urbanos e também em algumas espécies focais de plantas que se mostrarem atrativas às abelhas nativas. As abelhas serão coletadas com rede entomológica e identificadas em laboratório. Em algumas áreas urbanas (ex. Jardim Botânico de Londrina e Parque Municipal Arthur Thomas) serão disponibilizados ninhos iscas para avaliar as preferências para atrair abelhas solitárias. Serão testados bambus, placas de madeira e de argila (tijolos) com diferentes tamanhos de orifícios.

#### **META 4.2 ECOLOGIA ALIMENTAR, SOBREPOSIÇÃO DE NICHOS E MANEJO DE ABELHAS SEM FERRÃO EM MELIPONÁRIOS**

##### ATIVIDADE 4.2.1 CARACTERIZAÇÃO DA DIETA DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO CRIADAS EM MELIPONÁRIOS NA REGIÃO CENTRO-SUL DO PARANÁ

Para realização deste projeto serão selecionados três meliponários localizados na região urbana no município de Guarapuava (PR), e três meliponários na região rural localizados em Prudentópolis (PR). As espécies-alvo do presente estudo serão espécies comumente consorciadas em meliponários rurais e urbanos e endêmicas da Mata Atlântica: *Friesella schrottkyi* (Friese, 1900), *Melipona (Melipona) quadrifasciata* Lepeletier, 1836, *Melipona (Eomelipona) bicolor* Lepeletier, 1836, *Melipona (Eomelipona) torrida* Friese, 1916, *Nannotrigona testaceicornis* (Lepeletier, 1836), *Plebeia remota* (Holmberg, 1903), *Plebeia droryana* (Friese, 1900), *Plebeia nigriceps* (Friese, 1901), *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier, 1836) e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811).

Os recursos polínicos serão coletados mensalmente num período de 24 meses. Em cada coleta mensal serão coletadas amostras de pólen de cinco indivíduos (abelhas forrageiras) de cada uma das dez espécies-alvo do estudo, totalizando 50 amostras por mês para cada meliponário. As amostragens serão feitas em dias sem pluviosidade e serão divididas igualmente de forma a representar a estação quente (de outubro a março) e estação fria (abril a setembro). Esses esforços serão realizados para cada um dos seis meliponários, resultando em 300 amostras mensais.

Para obtenção das amostras de pólen, serão obstruídas as entradas das colônias com gravetos impedindo a entrada das abelhas forrageiras. As abelhas que estiverem carregando pólen em suas corbículas serão capturadas. A captura será feita manualmente ou com auxílio de um pequeno recipiente plástico com tampa. As amostras serão armazenadas em microtubos (1 mL) tipo *Eppendorf*<sup>®</sup> contendo solução AFA (5% de ácido acético, 5% de formaldeído e 90% de álcool 50%). Na sequência, as abelhas serão liberadas para retornarem às suas atividades.

Posteriormente à etapa de coleta, as amostras passarão pelo processo de acetólise descrito por Erdtman (1952) e serão montadas em lâminas com gelatina glicerínada e posterior visualização em microscópio óptico. Os táxons serão identificados até o nível de família e eventualmente em morfotipos diferentes dentro de uma mesma família, contando com auxílio de especialista e de consultas às plataformas virtuais como Rede de Catálogos Polínicos (RCPol) e Global Pollen Project<sup>78</sup>.

Além disso, serão utilizadas técnicas de análises moleculares (DNA Metabarcoding) para a identificação de espécies de plantas utilizadas pelas abelhas. Esta abordagem visa também o entendimento de aspectos ecológicos do ferrageamento das espécies. Os métodos desta abordagem serão os mesmos especificados na Meta 2.3, Atividade 2.3.1.

A dieta polínica de cada espécie de abelha-sem-ferrão será avaliada a partir da lista de morfotipos polínicos. Para cada espécie de abelha será calculada riqueza e largura de nicho alimentar (Índice de Diversidade de Shannon-Wiener).

#### ATIVIDADE 4.2.2 ANÁLISE DOS PADRÕES DE REDES DE INTERAÇÃO E SOBREPOSIÇÃO DE NICHOS ALIMENTAR

As redes de interação abelha-planta serão analisadas a partir de redes bipartidas sendo analisadas as seguintes métricas; Conectância e Aninhamento das redes. Essas análises serão feitas para os dados de cada meliponário e de forma sazonal. A partir das abundâncias relativas dos morfotipos polínicos analisados na Atividade 4.2.1, serão calculados o valor de sobreposição de nicho trófico entre todas as espécies de abelhas-sem-ferrão analisadas. Essa análise será feita com base na Análise de agrupamento, utilizando o Índice de Similaridade de Bray-Curtis e o algoritmo UPGMA. As sobreposições nos nichos alimentares serão avaliadas também quanto à variação sazonal.

#### ATIVIDADE 4.2.3 PROPOSTA DE CONJUNTOS DE ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO A SEREM CONSORCIADAS DE FORMA A MINIMIZAR AS SOBREPOSIÇÕES DE NICHOS ALIMENTAR

A partir dos resultados obtidos nas Atividades 4.2.1 e 4.2.2 serão avaliadas quais as espécies de abelhas sem ferrão que apresentam menor sobreposição de nicho ao longo do ano e sazonalmente. Assim serão propostos quais conjuntos de espécies poderiam ser criadas com menor sobreposição de nicho alimentar o que, possivelmente acabará em ganhos na produção.

## EIXO 5 – ESCOLA DE NEGÓCIOS

O Eixo 5 sofreu ajustes em relação a proposta original aprovada. Esses reajustes foram necessários para a adequação precisa aos objetivos do NAPI ABELHAS e das demandas apresentadas pelos setores.

### META 5.1 QUALIDADE & NEGÓCIOS

#### ATIVIDADE 5.1.1 MÉTRICAS DE QUALIDADE NA PRODUÇÃO DE MÉIS

Com o objetivo de fortalecer as métricas de qualidade do produto como elementos centrais no processo de interação com o mercado, serão analisados os diferentes produtos existentes no mercado e analisar os diferenciais de preço relativo a cada um desses. Para essas análises serão utilizadas ferramentas econômicas/econômicas para avaliação das relações entre qualidade e preços.

#### ATIVIDADE 5.1.2 RELAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO, QUALIDADE E PREÇOS

Ademais, buscar-se-á destacar a qualidade como elemento agregador de valor e para isso serão usados modelos de avaliação de matriz SWOT para avaliação de quais são as fraquezas, forças, oportunidades e desafios para a produção e atividade apícola. Mapeamento da cadeia produtiva e prospecção dos elos produtivos – fortes e fracos.

As pesquisas a serem realizadas serão baseadas em ferramentas metodológicas econômicas/econômicas para avaliação e estudo de como a qualidade é elemento agregador de receita e como as oportunidades podem ser exploradas em benefícios dos produtores, por meio de avaliação de cadeias produtivas, mas esses resultados não podem ficar circunscritos a elementos acadêmicos puros, tem-se também como proposta a realização de treinamentos e workshops como metodologia de difusão de informação com os produtores e isso com vistas a treinar e fortalecer redes de produtores com vistas em avançar canais múltiplos de comercialização

ATIVIDADE 5.1.3 MAPEAMENTO DA CADEIA PRODUTIVA DE MÉIS NO PARANÁ: MELHORAMENTO DE APIÁRIOS (GESTÃO E QUALIDADE)

Com base nas metodologias de delineamento de cadeias produtivas e de análise de matriz SWOT, tem-se como resultado a melhor definição de estratégias de foco em diferentes nichos de mercado (renda, sustentabilidade qualidade) e na busca de fortalecer estratégias de marketing e economia para apicultores.

A Economia fornece diversas ferramentas de gestão e essas serão exploradas na avaliação de melhoramento de apiários (gestão e qualidade), em que se destacam: avaliação de posicionamento e competitividade, avaliação de qualidade e estratégias de certificação.

### **META 5.2 SUSTENTABILIDADE, GESTÃO E CERTIFICAÇÃO**

ATIVIDADE 5.2.1 LOCALIZAÇÃO E ESPECIALIZAÇÃO DA PRODUÇÃO - ESTUDOS PROSPECTIVOS

Com base nos dados do CENSO agropecuário e pesquisas do IBGE serão realizadas análises de localização espacial e especialização regional produtiva com a finalidade de mapear a produção de méis no estado e as diferentes características de qualidade, assim ter-se-á um perfil regional da produção, com vocações regionais para produção e mapeamento completo da produção estadual.

ATIVIDADE 5.2.2 CERTIFICAÇÃO, QUALIDADE E SUSTENTABILIDADE – ESTUDO PROSPECTIVO E PROTOCOLO PARA PRODUTORES: PRODUÇÃO, QUALIDADE, ROTULAGENS E EMBALAGENS

Ademais, na etapa de estudo entre sustentabilidade e certificação, pretende-se, usando ferramentas de bibliometria, avaliar sobre a produção do conhecimento e os avanços científicos nessa área, tanto no Brasil quanto no mundo, e com isso destacar as iniciativas de sustentabilidade e como essas se convertem em elementos de mercado.

ATIVIDADE 5.2.3 ESCOLA DE NEGÓCIOS - PROTOCOLO PARA A CADEIA PRODUTIVA DE MÉIS NO PARANÁ: ESTRATÉGIAS DE ECONOMIA E MARKETING PARA DIFERENTES NICHOS DE MERCADO

Nesse sentido, as experiências nacionais e internacionais documentadas por meio de redes de pesquisa e instituições de destaque na produção do conhecimento permitirão documentar o “estado da arte” sobre o tema e com isso propor o que elemento central desse eixo: uma escola de negócios e assim elaborar e treinar produtores para práticas de qualidade e sustentabilidade isso com vistas à Elaboração de padrões de certificação de origem e certificações diversas de produtos.

### **3.6 Indicadores**

Os indicadores estão descritos em conjunto com o item 3.8.

### **3.7 Resultados esperados (qualitativos):**

**Contribuições Científicas:** Espera-se elucidar os efeitos tóxicos e de seletividade de agrotóxicos nas abelhas, bem como avaliar a presença desses produtos e de metais pesados no mel. Novos métodos analíticos serão desenvolvidos para avaliar a qualidade de produtos apícolas e identificar compostos e adulterações nestes produtos. Também espera-se expandir o conhecimento sobre a composição de produtos apícolas no Paraná. Estratégias de melhoramento genético de abelhas serão desenvolvidas para melhorar a qualidade reprodutiva e a produção de mel, caracterizando o aspecto tecnológico da atividade no Estado do Paraná. Estudos sobre a taxonomia de abelhas sem ferrão, ecologia de dieta, sobreposição de

nichos alimentares e técnicas de manejo também serão desenvolvidas. A ampliação no conhecimento contribuirá na melhoria dos processos e produtos para produtores, apicultores e meliponicultores e na produção de artigos científicos, workshops com a comunidade e congressos da área e preencherão lacunas na pesquisa nestes campos. Contribuirão também para maior visibilidade das pesquisas deste setor no estado do Paraná.

**Contribuições Ambientais:** Espera-se que os resultados deste projeto contribuam para selecionar agrotóxicos seletivos a abelhas e que possam evitar a mortalidade ou repelência destas em sistemas agrícolas e agropecuários. Também é de destacada a importância que o mel esteja livre de agrotóxicos ou ainda dentro dos limites permitidos. A criação racional de abelhas é uma atividade que não gera impactos ambientais e que, ainda, pode ser empregada como indicador de contaminantes no ambiente. Neste caso, a detecção de agrotóxicos e metais pesados pode cumprir o papel do grupo como bioindicador. Isto vale para também para a questão de metais pesados tóxicos que possam contaminar produtos apícolas, principalmente aquelas colônias presentes próximas ou dentro do perímetro urbano, mais sujeito à estas contaminações, destacando-se a atividade meliponicultura, bastante intensa e em crescimento em áreas urbanas. As estratégias relacionadas ao melhoramento genético de abelhas impactarão positivamente nas questões ambientais, uma vez que o controle dos dados zootécnicos da produção e reprodução de material genético são premissas para a conservação dessa espécie.

**Contribuições Tecnológicas e/ou de Inovação:** As contribuições nesta área estão relacionadas às novas metodologias de testes empregadas, como os testes de efeitos subletais dos agrotóxicos sobre abelhas (testes diversos, software a ser desenvolvido, análises bioquímicas etc.). O desenvolvimento de estratégias que viabilizem a coleta de dados para programas de melhoramento genético é uma contribuição tecnológica, assim como o aprimoramento de avaliação genética por meio de modelo animal, com adaptações para abelhas. Também se destacam as análises físico-químicas e cromatográficas do mel, que poderão conferir IG e DO ao mel. Metodologias baseadas em análises multivariadas, importantes para a detecção de adulterações ou diferenças entre produtos apícolas provenientes de diferentes regiões em diferentes estágios de maturidade tecnológica serão aplicadas e são passíveis de pedidos de propriedade intelectual.

**Contribuições Socioeconômicas:** Os resultados contribuirão com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) aumentando a renda dos pequenos produtores e fortalecendo a agricultura familiar, garantindo sistemas sustentáveis de produção de alimentos. A preservação das abelhas nativas ou domesticadas está relacionada com a preservação de territórios de povos originários e o bioma Mata Atlântica. Espera-se a seleção de abelhas com maior potencial para produção e mais tolerante aos agrotóxicos, e a valorização do mel com IG e DO e livre de contaminantes. A investigação dos possíveis efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas pode embasar políticas de regulação e práticas agrícolas mais sustentáveis, com foco na preservação das abelhas, na produção de mel, própolis, cera, pólen, geleia real e na fonte de renda. O projeto pode contribuir para o reconhecimento da IG, valorizando e protegendo os produtos de determinadas regiões, agregando valor e fomentando o desenvolvimento econômico local. Será possível propor estratégias para fortalecer a cadeia produtiva paranaense, incluindo boas práticas de manejo, adoção de tecnologias inovadoras e aprimoramento dos processos de produção, melhoria genética e comercialização.

**Contribuições na formação de Recursos Humanos:** Espera-se incrementar a formação de recursos humanos em vários níveis, incluindo técnicos, graduandos (com trabalhos de iniciação científica e conclusão de curso) e pós-graduandos (com desenvolvimento de dissertações e teses), bem como informações e conhecimentos para os profissionais e para os produtores, apicultores e meliponicultores. Espera-se o aumento do número de profissionais de pesquisa e desenvolvimento em todo o estado do Paraná, promovendo a educação para o desenvolvimento sustentável e a difusão do conhecimento. Destaca-se que essa colaboração envolve instituições de ensino superior comprometidas com a formação de profissionais altamente qualificados. Também se considera a possibilidade de implementar atividades nas escolas públicas, demonstrando o papel crucial das abelhas na polinização e como fonte de renda.

### 3.8 Impactos Esperados (quantitativos):

#### NÚMERO DE PESSOAS ENVOLVIDAS

Diretamente: Estima-se que cerca de 100 pesquisadores, entre docentes, pesquisadores e estudantes de graduação e pós-graduação, estarão envolvidos nas atividades laboratoriais e experimentais do NAPI Abelhas.

Indiretamente: O projeto também impactará a comunidade acadêmica e científica local, nacional e internacional, além de produtores rurais, empresas agropecuárias e instituições governamentais, alcançando, certamente, mais de 1.000 pessoas, devido à característica da rede de pesquisadores de todo o Estado do Paraná que compõe este NAPI.

#### INDICADORES DE EVASÃO ESCOLAR:

Espera-se uma diminuição na evasão escolar, especialmente entre estudantes de graduação e pós-graduação envolvidos no projeto, devido ao aumento no interesse e engajamento em atividades científicas, com direta aplicação a um setor produtivo, além do suporte financeiro das bolsas concedidas.

#### EMPREGABILIDADE:

Com o avanço das pesquisas e a geração de conhecimento científico, espera-se um aumento na empregabilidade dos pesquisadores e estudantes envolvidos no projeto, contribuindo para o desenvolvimento profissional e econômico da região. A fim de enfatizar este ponto, bolsas de pós-doutoramento e bolsas técnico serão aplicadas.

#### DESENVOLVIMENTO REGIONAL:

O projeto pode impulsionar o desenvolvimento regional ao promover parcerias entre instituições de pesquisa, empresas e órgãos governamentais, resultando em novas oportunidades de investimento e crescimento no setor agrícola e tecnológico, tanto para apicultores quanto para meliponicultores. Além disso, neste processo o Estado do Paraná poderá tornar-se uma referência tecnológica na área reconhecida por meio deste NAPI.

#### IMPACTOS AMBIENTAIS E CIENTÍFICOS:

Conservação da Biodiversidade: As pesquisas sobre a seletividade dos agentes de controle de agrotóxicos visam proteger as populações de abelhas e outras espécies polinizadoras, contribuindo para a conservação da biodiversidade e a manutenção dos ecossistemas. São padrões ainda não mensuráveis no ambiente.

Avanços Científicos: O projeto promove avanços científicos na área de toxicologia ambiental, fornecendo dados importantes sobre os efeitos dos agrotóxicos nas abelhas e suas interações com o meio ambiente, o que pode subsidiar políticas públicas e práticas agrícolas mais sustentáveis.

#### IMPACTOS TECNOLÓGICOS E SOCIOCULTURAIS:

Tecnologias Sustentáveis: Os resultados do projeto podem orientar o desenvolvimento e a adoção de tecnologias mais sustentáveis na agricultura, reduzindo o impacto negativo dos agrotóxicos no meio ambiente e na saúde humana.

Conscientização e Educação: A divulgação dos resultados do projeto por meio de workshops,

seminários e publicações técnicas e científicas pode contribuir para a conscientização sobre a importância da preservação das abelhas e a necessidade de práticas agrícolas responsáveis.

**IMPACTOS ECONÔMICOS:**

**Competitividade Agrícola:** A avaliação do risco de agrotóxicos para as abelhas pode melhorar a qualidade dos produtos agrícolas, garantindo a competitividade dos produtos brasileiros no mercado internacional, especialmente no setor de mel e produtos apícolas.

**Desenvolvimento Sustentável:** O projeto visa promover o desenvolvimento sustentável do agronegócio por meio da produção responsável e da conservação dos recursos naturais, contribuindo para a economia local e regional de forma equilibrada e duradoura.

**IGPM (ÍNDICE GERAL DE PREÇOS DO MERCADO)**

O NAPI ABELHAS pode influenciar o IGPM ao promover aprimoramentos na qualidade e na competitividade dos produtos apícolas e meliponícolas produzidos no Paraná. Ao melhorar a caracterização e a certificação desses produtos, o projeto pode contribuir para aumentar seu valor de mercado, resultando em impactos positivos nos preços e na rentabilidade para os produtores locais.

**IDH (ÍNDICE DE DESENVOLVIMENTO HUMANO)**

O NAPI ABELHAS pode contribuir para o IDH ao fomentar a produtividade e a renda dos produtores apícolas e meliponícolas do Paraná. Por meio do aprimoramento das técnicas de melhoramento genético das abelhas, o projeto visa aumentar a competitividade estadual na produção nacional, proporcionando melhores condições de vida e oportunidades econômicas para os apicultores locais.

**IDEB (ÍNDICE DE DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO BÁSICA)**

O NAPI ABELHAS pode influenciar positivamente o IDEB ao implementar atividades educacionais e de capacitação nas escolas relacionadas ao setor apícola. O eixo "Escolas de Negócios" visa oferecer orientação e suporte aos produtores em questões relacionadas aos negócios, incluindo práticas de gestão e empreendedorismo. Ao fortalecer as capacidades dos produtores apícolas, o projeto pode indiretamente contribuir para melhorar os indicadores educacionais e o desenvolvimento da educação básica na região.

<b>IMPACTOS ESPERADOS QUANTITATIVOS POR EIXO</b>	
<b>EIXO 1: RISCO DE AGROTÓXICOS ÀS ABELHAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de <b>uma</b> lista de agentes de controle seguros para as abelhas, bem como as especificações para uso, a fim de preservar estas abelhas;</li> <li>- Elaboração de <b>uma</b> cartilha com a popularização dos estudos publicados em artigos científicos em linguagem clara e acessível aos produtores e demais interessados;</li> <li>- Publicação de <b>três</b> artigos científicos com técnicas inovadoras de estudos de bioquímica e expressão gênica para os diferentes grupos de abelhas;</li> <li>- Apresentação dos resultados em, ao menos, <b>10</b> eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação, no mínimo <b>10</b> estudantes;</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de, ao menos, <b>10</b> Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> <li>- Realização de, ao menos, <b>quatro</b> workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</li> <li>- Divulgação <b>semanal</b> dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>
<p><b>EIXO 2: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS E MELIPONÍCOLAS</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de <b>quatro</b> relatórios e laudos de análise;</li> <li>- Elaboração de <b>uma</b> Cartilha de recomendações de qualidade na produção;</li> <li>- Elaboração de <b>um</b> Manual de prevenção de fraudes e adulterações de acordo com o princípio <i>farm to fork</i>;</li> <li>- Identificação e quantificação de compostos bioativos em produtos apícolas – ao menos <b>uma</b> por ano;</li> <li>- Detecção e quantificação de elementos traço em produtos apícolas - ao menos <b>um</b> por ano;</li> <li>- Desenvolvimento de processos e produtos inovadores, com proteção intelectual – ao menos <b>um</b>;</li> <li>- Elaboração de <b>uma</b> lista de espécies de plantas forrageadas por abelhas (<i>Apis</i>, nativas solitárias e sociais);</li> <li>- Disponibilização de ao menos <b>um</b> material de divulgação (folder ou cartilha) em linguagem simples para disponibilização para apicultores e meliponicultores com lista de espécies de plantas de preferência pelos diferentes tipos de abelhas;</li> <li>- Formação de, ao menos, <b>cinco</b> recursos humanos qualificados;</li> <li>- Publicação de, ao menos, <b>10</b> publicações entre dissertações, Teses, artigos científicos e artigos de divulgação científica.</li> </ul>
<p><b>EIXO 3: MELHORAMENTO GENÉTICO</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaborar <b>um</b> relatório com a Identificação de marcadores genéticos ligados à produção de mel e robustez das abelhas que possam ser utilizados futuramente em Programas de Melhoramento Genético de Abelhas;</li> <li>- Estruturação de <b>um</b> banco de dados quantitativo com informação completa de pedigree;</li> <li>- Identificação de, ao menos, <b>cinco</b> apicultores e apiários que possam ser multiplicadores de material genético selecionado;</li> <li>- Estruturação de <b>um</b> modelo básico de Programa de Melhoramento Genético de Abelhas voltado para o Estado do Paraná;</li> <li>- Ao menos <b>um</b> produto que venham solucionar gargalos no transporte de rainhas africanizadas, especialmente os ligados ao bem-estar desses insetos;</li> <li>- <b>Um</b> Protocolo de monitoramento qualitativo de rainhas africanizadas comercializadas;</li> <li>- <b>Um</b> Protocolo de produção de sêmen no contexto de um Programa de Melhoramento Genético de Abelhas;</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ao menos <b>dois</b> Materiais didáticos e técnicos voltado para apicultores, técnicos, pesquisadores e extensionistas;</li> </ul>
<p><b>EIXO 4: DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE ABELHAS PARANAENSES</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de <b>uma</b> base de dados com registros de ocorrência para grupos de espécies de abelhas paranaenses, a qual deverá servir para a elaboração de lista estadual de espécies, lista de espécies avaliadas quanto ao risco de extinção, mapas associados de distribuição de espécies;</li> <li>- Elaborar <b>um</b> guia ilustrado de espécies de ASF para o estado;</li> <li>- <b>Um</b> relatório compilando esforços em detectar a influência da paisagem e uso da terra sobre as abelhas e fornecendo dados para subsidiar ações conservacionistas e de manejo de espécies;</li> <li>- <b>Um</b> relatório por localidade indicando os níveis de metais pesados e fornecendo um parecer sobre a segurança alimentar e ambiental;</li> <li>- <b>Uma</b> Cartilha contendo boas práticas estruturais e de manejo de flores e substratos para potencializar a presença de polinizadores;</li> <li>- Elaborar <b>uma</b> lista das espécies vegetais mais utilizadas pelas abelhas sem ferrão (Meliponini) de modo a indicar quais espécies plantar próximas aos meliponários a fim de melhorar a produção;</li> <li>- Publicar, ao menos, <b>um</b> trabalho sobre a sobreposição de nicho alimentar entre as espécies de abelhas sem ferrão mais comumente criadas de forma consorciada e como essa sobreposição varia ao longo do ano;</li> <li>- Elaborar <b>um</b> material com a proposição de conjuntos de espécies a serem criadas consorciadas a fim de melhorar o manejo de abelhas sem ferrão em meliponários.</li> </ul>
<p><b>EIXO 5: ESCOLA DE NEGÓCIOS</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sistematizar a produção do conhecimento sobre sustentabilidade, gestão e certificação por meio de, ao menos, <b>três</b> artigos científicos sobre apicultura e essas temáticas em uma análise bibliométrica;</li> <li>- Desenhar, pelo menos, <b>dois</b> modelos de gestão que associem qualidade e rentabilidade;</li> <li>- Sistematizar <b>uma</b> sequência de elementos-chaves para a gestão, qualidade e intervenção por meio de treinamentos a se compor a Escola de Negócios (apostila);</li> <li>- Participar e organizar, ao menos, <b>três</b> Workshop sobre qualidade, sustentabilidade e certificação;</li> <li>- Elaborar <b>uma</b> apostila com os 10 passos para certificação; detalhadamente e circunstanciada.</li> <li>- Promover, pelo menos, <b>dois</b> Dias de campo sobre apicultura e negócios (qualidade, gestão econômica, financeira e crédito, marketing e sustentabilidade).</li> </ul>

### 3.9 *Colaborações ou parcerias:*

- Ministério da Integração e Desenvolvimento Regional- MIDR (Rota do Mel);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq;
- Fundação Araucária
- Associação de Apicultores de Capanema - APIC
- Cooperativa de Crédito Rural – Cresol
- Associação Prudentopolitana de Apicultores e Meliponicultores - APAM
- Cooperativa Agrofamiliar Solidária - Coofamel
- Meliponário Recrutando Abelhas Sem Ferrão
- Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná - IDR
- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE
- Apicultor Cristian Acker Godoy
- Associação de Apicultores do Oeste do Paraná - APIOESTE
- Associação de Apicultores de Cascavel – APIVEL

### 3.10 *Caracterização dos interesses recíprocos*

As instituições envolvidas na presente proposta apresentam um alinhamento de objetivos que visam uma colaboração mútua para o estudo e aplicação de conhecimentos sobre abelhas, foco na produtividade sustentável, preservação do ambiente e formação de recursos humanos qualificados. A existência de cartas de apoio (em anexo - p. 79 a 98) enviadas por diversas instituições evidencia o engajamento e o interesse em colaborar com o NAPI ABELHAS, indicando uma disposição para contribuir com recursos, conhecimentos e apoio institucional. As cartas de apoio foram encaminhadas pelas seguintes instituições:

- a) Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR
- b) Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Dois Vizinhos
- c) Cooperativa Agrofamiliar Solidária - Coofamel
- d) Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Campus Marechal Cândido Rondon
- e) Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Campus Toledo
- f) Meliponário Recrutando Abelhas Sem Ferrão
- g) Associação Prudentopolitana de Apicultores e Meliponicultores – APAM
- h) Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná - IDR
- i) Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE
- j) Apicultor Cristian Acker Godoy
- k) Associação de Apicultores do Oeste do Paraná - APIOESTE
- l) Associação de Apicultores de Cascavel – APIVEL
- m) Universidade Federal da Integração Latino Americana – UNILA
- n) Luiz F. Brito - College of Agriculture, Purdue University
- o) Associação Brasileira de Zootecnistas – ABZ
- p) Daniela A. L. Lourenco - University of Georgia (UGA)
- q) Secretaria nacional de Políticas de Desenvolvimento Regional e Territorial (SDR)

Ao caracterizar esses interesses recíprocos, é possível destacar a sinergia entre as instituições

envolvidas, que compartilham objetivos comuns relacionados ao estudo, preservação e promoção da sustentabilidade das abelhas. Essa cooperação é essencial para o sucesso do NAPI ABELHAS e para o alcance dos resultados esperados em benefício da comunidade e do meio ambiente.

### 3.11 Público alvo

**Produtores apícolas e meliponicultores** interessados em aprimorar o manejo, certificação e valorização dos produtos apícolas e meliponícolas, bem como participar de iniciativas de melhoramento genético e conservação das abelhas.

**Estudantes de escolas públicas e privadas** que participarão e contribuirão nas atividades de extensão, sendo agentes fundamentais no processo de disseminação das informações.

**Empresas e entidades do setor apícola e meliponícola** interessadas em investir em pesquisa, inovação e tecnologia para aprimorar a produção e a qualidade dos produtos derivados das abelhas.

**Estudantes de graduação e pós-graduação** envolvidos neste programa, fomentando a formação de recursos humanos de qualidade com foco em abelhas.

Indiretamente **pesquisadores, acadêmicos e técnicos de áreas** relacionadas à apicultura e meliponicultura, ecologia, genética e conservação de abelhas, interessados nos resultados das pesquisas científicas e nos estudos sobre os desafios das abelhas no contexto agrícola do Paraná.

Indiretamente **gestores públicos** responsáveis pela formulação e implementação de políticas públicas relacionadas a conservação da biodiversidade, uso sustentável de recursos naturais e controle de agrotóxicos.

### 3.12 Problema a ser resolvido

O NAPI Abelhas se propõe a resolver uma série de problemas, passando pela conservação da natureza, dos serviços de polinização e mesmo por problemas econômicos sociais auxiliando e gerando informações de qualidade para os produtores em apicultura e meliponicultura, abordando uma série de problemas que impactam a sustentabilidade e o desenvolvimento deste setor. De acordo com os objetivos específicos elencados, os problemas a serem resolvidos:

1. AVALIAR O RISCO DE DIFERENTES AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (APIS MELLIFERA E MELIPONINI – SEM FERRÃO);

A exposição das abelhas a diferentes tipos de agrotóxicos, incluindo herbicidas, fungicidas, inseticidas químicos, biológicos e botânicos, representa uma ameaça à sua saúde e à biodiversidade. É crucial entender e mitigar os riscos associados a esses produtos químicos para garantir a sobrevivência e a vitalidade das populações de abelhas.

2. CARACTERIZAR E AVALIAR A QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS E MELIPONÍCOLAS, COM VISTAS À CERTIFICAÇÃO E VALORAÇÃO DESSES PRODUTOS;

A falta de certificação e valorização adequadas dos produtos apícolas e meliponícolas compromete a qualidade e a competitividade no mercado. A caracterização precisa e a avaliação da qualidade desses

produtos são essenciais para estabelecer padrões, promover a confiança do consumidor e incentivar a valorização do setor.

3. APRIMORAR AS TÉCNICAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE APIS MELLIFERA PARA AUMENTO E MELHORIA DA PRODUTIVIDADE;

A necessidade de aumentar e aprimorar a produtividade das abelhas *Apis mellifera* é um desafio contínuo. O projeto buscará aprimorar as técnicas de melhoramento genético para fortalecer as características desejáveis, como resistência a doenças, produção de mel e comportamento reprodutivo.

4. ANALISAR E AVALIAR A DIVERSIDADE, A ECOLOGIA E A CONSERVAÇÃO DE ABELHAS PARANAENSES E SUAS RESPOSTAS ÀS PRESSÕES ANTRÓPICAS;

A falta de compreensão abrangente sobre a diversidade, ecologia e as respostas das abelhas paranaenses às pressões antrópicas dificulta a implementação de estratégias eficazes de conservação. Este componente do projeto visa preencher essa lacuna de conhecimento crítico.

5. FORTALECER AS MÉTRICAS DO SETOR COM VISIBILIDADE AO MERCADO E A GESTÃO DE NEGÓCIOS.

O setor apícola muitas vezes carece de métricas sólidas e eficazes para avaliação e gestão de negócios. O projeto NAPI ABELHAS buscará fortalecer essas métricas, proporcionando maior visibilidade ao mercado, impulsionando a competitividade e promovendo uma gestão mais eficiente das atividades apícolas.

Ao abordar esses problemas de maneira integrada, o NAPI ABELHAS visa criar soluções inovadoras que beneficiem não apenas as abelhas, mas também os apicultores, meliponicultores, consumidores e o ambiente como um todo.

### **3.13 Relação entre a proposta e os objetivos e diretrizes do programa**

Considerando a importância das abelhas como bioindicadores ambientais e seu papel fundamental nos ecossistemas naturais e agrícolas, é essencial desenvolver estratégias que abordem os desafios enfrentados pelas abelhas no estado do Paraná. Neste sentido, em consonância a Nota Técnica da Fundação Araucária nº 01/2019 sobre Novos Arranjos de Pesquisa e Inovação - NAPI esta proposta de estruturação do NAPI ABELHAS busca avanços sociais, econômicos e humanos, sendo direcionado para atender demandas setoriais, regionais e estadual, de forma integrada. Este NAPI atende às diretrizes específicas da Fundação Araucária:

**Objetivo 1.** Avaliar o risco de agrotóxicos para abelhas: Este objetivo está alinhado com a Diretriz DA 1 que propõe promover ações que levam a criação de riqueza e bem-estar, DA 3 que visa privilegiar crescimento horizontal e não vertical e DA 4 que visa mobilizar capitais humano e social para a produção de ciência e tecnologia e ainda contribuirá para a Ciência 4.0, conforme DA 6. A avaliação dos riscos dos agrotóxicos contribuirá para a geração de conhecimento em parceria com instituições internacionais DA 8 e aprimoramento das técnicas de produção apícola, permitindo a criação e produção de produtos apícolas e meliponícolas em harmonia com outras culturas circunvizinhas, alinhado as DA 9.

**Objetivo 2.** Caracterizar e avaliar a qualidade de produtos apícolas: Este objetivo está relacionado à Diretriz

DA 1 que privilegia ações que levem à criação de riqueza e bem-estar, DA 2 Promover os Ecossistemas de Inovação Regionais como meios de desenvolvimento territorial, DA 3 Privilegiar crescimento horizontal e não vertical, DA 5 Conduzir uma política de cocriação e cogestão com a Sociedade Paranaense, DA 6 Permirmo avanço na Ciência 4.0 e na inserção do Paraná no cenário global de méis de qualidade e diferenciados, DA 7 Promover soluções originais a partir da realidade do Paraná, DA 8 eventualmente inspiradas do meio externo e DA 9 Focar em áreas estratégicas para o desenvolvimento socioeconômico do Paraná. A certificação e valoração dos produtos apícolas visam agregar valor ao setor, promovendo o desenvolvimento econômico e social.

**Objetivo 3.** Aprimorar as técnicas de melhoramento genético de *Apis mellifera*: Este objetivo está alinhado com a Diretriz DA 3, que privilegia o crescimento horizontal e não vertical. O aprimoramento das técnicas de melhoramento genético visa promover o desenvolvimento territorial por meio da inovação na produção apícola. Somado a isso, esse objetivo estará alinhado com a Diretriz DA 6, preparando as bases para que a produção 4.0 possa ser estabelecida dentro da melhoria genética de abelhas.

**Objetivo 4.** Analisar e avaliar a diversidade, ecologia e conservação de abelhas paranaenses: Este objetivo está relacionado a DA 5, que propõe conduzir uma política de cocriação e cogestão com a Sociedade Paranaense. A utilização de polinizadores com base nas espécies da nossa fauna, está em acordo com a DA 7. A análise da diversidade e conservação das abelhas envolve a participação da sociedade na promoção da sustentabilidade ambiental, em especial por meio dos serviços de polinização, alinhando-se à DA 9. Além disso, o objetivo abrange a DA 4 que visa mobilizar capitais humano e social para a produção de ciência e tecnologia.

**Objetivo 5.** Fortalecer as métricas do setor com visibilidade ao mercado e a gestão de negócios: Este objetivo está alinhado com a Diretriz DA 7, que propõe promover soluções originais a partir da realidade do Paraná. O fortalecimento das métricas do setor e a gestão de negócios visam impulsionar a competitividade do mercado apícola regional.

O alcance a essas diretrizes será possível uma vez que o NAPI aqui proposto visa o desenvolvimento de estratégias ambientais e genéticas para a melhoria da cadeia de produção apícola e meliponícola do estado do Paraná, com potencial prospecção nacional e internacional. O desenvolvimento de conhecimento sobre os possíveis efeitos dos agrotóxicos, o melhoramento genético de rainhas e qualidade de mel estão ligados diretamente à criação de riqueza e bem-estar e ao desenvolvimento territorial por meio de soluções originais, iniciadas em IES do estado do Paraná.

Sendo assim, a área priorizada do agronegócio e do desenvolvimento sustentável serão diretamente atingidas por esta proposta, pois este NAPI prevê a criação direta e indireta de riqueza e a manutenção da biodiversidade, especialmente das abelhas. Esta proposta também estreita os laços das diversas IES, especialmente as do estado do Paraná, associadas a outras instituições nacionais e internacionais que têm por objetivo comum a preservação das abelhas e a melhoria da qualidade de seus produtos e subprodutos. Por fim, pretende-se fortalecer a pesquisa sobre abelhas no estado do Paraná, destacada por gerar tecnologias pioneiras e de ampla aplicação na cadeia apícola nacional e internacional.

#### 4 DESPESAS/ORÇAMENTO

ITEM	Item de despesa	Duração	Quant. De bolsistas	Valor unit. (R\$)	Valor Total (R\$)
<b>BOLSAS (tipo de bolsa)</b>					
1	Pós-doutorado (PDS)	12	5	R\$ 5.500,00	R\$ 330.000,00
2	Pós-doutorado Júnior (PDJ)	12	5	R\$ 5.125,00	R\$ 307.500,00
3	Mestrado (GM)	24	2	R\$ 1.875,00	R\$ 90.000,00
4	Bolsista Técnico II (BT NS)	36	10	R\$ 2.500,00	R\$ 900.000,00
5	Bolsista Técnico II (BT NS)	24	3	R\$ 2.500,00	R\$ 180.000,00
6	Iniciação Científica (PIBIC)	12	23	R\$ 700,00	R\$ 193.200,00
	<b>Total Bolsas</b>				<b>R\$ 2.000.700,00</b>

<b>CUSTEIO</b>					
1	Consumo (Reagentes, vidrarias, açúcar, pólen, inseticidas, corantes, insumos, reagentes para biologia molecular, reagentes para expressão gênica, meio de cultura, reagentes para histologia, reagentes e materiais para MEV, recipientes plásticos, tecidos para gaiolas, gases, embalagens, gaiolas, prendedores, ferramentas, material de escritório, etc.)		--	---	R\$ 285.842,30
2	Diárias I (Demais municípios)		204	R\$ 278,90	R\$ 56.895,60
3	Diárias II (Capital de Estado)		159	R\$ 356,50	R\$ 56.683,50
4	Serviços de terceiros (Sequenciamento de amostras microbiológicas, Manutenção de equipamentos, confecção de materiais para amostragem de abelhas, impressões e serviços gráficos, análises moleculares, análises bioquímicas, etc.)		--	---	R\$ 62.500,00
5	Passagens – variáveis (coletas de abelhas, reuniões, eventos, etc.)		57	R\$ 1.000,00	R\$ 57.000,00
	<b>Total Custeio</b>				<b>R\$ 518.921,40</b>

<b>CAPITAL</b>				
ITEM	DESCRIÇÃO	QUANT.	VALOR UNIT.	VALOR TOTAL
1	Câmaras climatizada com controle de umidade, fotoperíodo e temperatura	3	R\$ 45.000,00	R\$ 135.000,00
2	Estufa digital para cultura bacteriológica 110 L	2	R\$ 5.000,00	R\$ 10.000,00
3	Refratômetro de bancada tipo Abbé	1	R\$ 6.000,00	R\$ 6.000,00
4	Incubadora de bancada com controle de temperatura e agitação orbital 0-300rpm	1	R\$ 30.000,00	R\$ 30.000,00
5	GPS	1	R\$ 3.500,00	R\$ 3.500,00

6	Centrífuga de mel	1	R\$ 4.500,00	R\$ 4.500,00
7	Bomba de alto vácuo	1	R\$ 20.000,00	R\$ 20.000,00
8	Datalogger (temperatura, umidade e impacto de transporte)	30	R\$ 4.000,00	R\$ 120.000,00
9	Cromatógrafo gasoso com detectores TCD e FID e acessórios para análise de produtos apícolas	1	R\$ 250.000,00	R\$ 250.000,00
10	Tablets para coleta de dados a campo	6	R\$ 2.000,00	R\$ 12.000,00
11	Mesa desoperculadora 20 quadros	1	R\$ 1.500,00	R\$ 1.500,00
12	Notebook	2	R\$ 7.000,00	R\$ 14.000,00
13	Decantador 200Kg	1	R\$ 1.500,00	R\$ 1.500,00
14	Stereo Discovery. V12 com sistema de fotodocumentação	1	R\$ 90.000,00	R\$ 90.000,00
<b>Total Capital</b>				<b>R\$ 698.000,00</b>
<b>VALOR DA PROPOSTA:</b>				<b>R\$ 3.217.621,40</b>

<b>Valor da proposta</b>	<b>R\$ 3.217.621,40</b>
<b>Serviço de apoio financeiro e operacional (5%)</b>	<b>R\$ 135.834,28</b>
<b>VALOR TOTAL DA PROPOSTA:</b>	<b>R\$ 3.353.455,68</b>

## 5 ATIVIDADES DO PROJETO

### EIXO 1: RISCO DE AGROTÓXICOS ÀS ABELHAS

#### META 1.1 AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (*APIS MELLIFERA* E *MELIPONINI* – SEM FERRÃO)

<b>Atividades (1.1.1):</b>	Ação dos agrotóxicos, por pulverização direta, via alimentação e por contato, sobre operárias;			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 46
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Everton Ricardi Lozano da Silva (UTFPR-DV) (1h) Sílvia Helena Sophia (UEL) (1h) Maria Claudia R. Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)			

<b>Atividades (1.1.2):</b>	Testes de toxicidade sobre operárias – OECD			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 46
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Everton Ricardi Lozano da Silva (UTFPR-DV) (1h) Sílvia Helena Sophia (UEL) (1h) Maria Claudia R. Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Bolsista Mestrado (40) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)			

<b>Atividades (1.1.3):</b>	Ação dos agrotóxicos sobre larvas e a produção de rainhas			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 45
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Maria Claudia R Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) (1h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)			

<b>Atividades (1.1.4):</b>	Análise de comportamento e capacidade de voo de abelhas com auxílio de Inteligência Artificial (IA)			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 44
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Maria Claudia R Takasusuki (UEM) (1h)			

	Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) (1h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)
--	--

<b>Atividades (1.1.5):</b>	Avaliação de parâmetros biológicos e histológicos			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 45
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Maria Claudia R Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) (1h) Bolsista Mestrado (40 h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)			

<b>Atividades (1.1.6):</b>	Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 45
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Maria Claudia R Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) (1h) Bolsista Mestrado (40 h) Bolsista Técnico (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)			

<b>Atividades (1.1.7):</b>	Análises bioquímicas e expressão gênica			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 47
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (1h) Maria Claudia R Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) (1h) Paula F. Montanher (UTFPR-DV) (Responsável – 2h) Paulo Roberto Da Silva (UNICENTRO) (1h) Bolsista Mestrado (40 h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)			

<b>Atividades (1.1.8):</b>	Análise da microbiota individual e de colônia			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 46
<b>Membros:</b>	Michele Potrich (UTFPR-DV) (1h)			

	Maria Claudia R Takasusuki (UEM) (Responsável – 2h) Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) (1h) Paulo Roberto da Silva (UNICENTRO) (Responsável – 2h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h) Bolsista de pós-doutorado (40h)
--	--

## EIXO 2: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS E MELIPONÍCOLAS

### META 2.1 CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS

<b>Atividades (2.1.1):</b>	Avaliação da qualidade dos produtos apícolas do Paraná, propriedades físico-químicas, microbiológicas e melissopalínológicas			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 50 h
<b>Membros:</b>	Cleber Antonio Lindino (Unioeste - TOO) - Responsável (2h) Regina Conceição Garcia (Unioeste - MCR) - (1h) Guilherme Garcia Bessegato (UTFPR-DV) - (1h) Paula F. Montanher (UTFPR-DV) - (1h) Milene O. Pereira (UTFPR-DV) - (1h) Renato Eising (UTFPR-TOO) - (1h) Cleverson Busso (UTFPR-TOO) - (1h) Marcela Boroski (UNILA) - (1h) Paulo Roberto da Silva (UNICENTRO) (1h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h)			

<b>Atividades (2.1.2):</b>	Desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos de baixo custo e rápidos para detectar modificações e adulterações nos produtos apícolas aliados a técnicas de IA (redes neurais)			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 47 h
<b>Membros:</b>	Cleber Antonio Lindino (Unioeste - TOO) - Responsável (2h) Guilherme Garcia Bessegato (UTFPR-DV) - (1h) Paula F. Montanher (UTFPR-DV) - (1h) Milene O. Pereira (UTFPR-DV) - (1h) Marcela Boroski (UNILA) - (1h) André Ortoncelli (UTFPR-DV) - (1h) Bolsista Técnico (20h) Iniciação Científica (20h)			

<b>Atividades (2.1.3):</b>	Georreferenciamento de apiários para melhorar a rastreabilidade dos produtos e estudar o uso e ocupação das terras.
----------------------------	---

<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b>	45h
<b>Membros:</b>	Regina Conceição Garcia (Unioeste - MCR) - Responsável (2h) Ericson Hideki Hayakawa (Unioeste - MCR) - (1h) Edmar s. de Vasconcelos (Unioeste - MCR) - (1h) Samuel Nicolau Hanel (Unioeste - MCR) - (1h) Bolsista Técnico II - (20h) Iniciação científica (20h)				

#### META 2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS

<b>Atividades (2.2.1):</b>	Identificação de novos compostos bioativos				
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b>	43 h
<b>Membros:</b>	Renato Eising (UTFPR-TOO) - Responsável (2h) Cleverson Busso (UTFPR-TOO) (1h) Bolsista Técnico II (20 h) Iniciação Científica (20 h)				

<b>Atividades (2.2.2):</b>	Quantificação de compostos bioativos e íons metálicos				
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b>	23 h
<b>Membros:</b>	Profa. Dra. Yohandra Reyes Torres (UNICENTRO) - Responsável (2h) Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia (UNICENTRO) - (1h) Bolsista Técnico II (20 h)				

<b>Atividades (2.2.3):</b>	Estudo da bioacessibilidade e biodisponibilidade ( <i>in vitro</i> ) dos compostos orgânicos bioativos e minerais presentes				
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b>	23 h
<b>Membros:</b>	Profa. Dra. Yohandra Reyes Torres (UNICENTRO) - Responsável (2h) Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia (UNICENTRO) - (1h) Bolsista Técnico II (20 h)				

<b>Atividades (2.2.4):</b>	Desenvolvimento de materiais com produtos apícolas para melhorar sua bioacessibilidade e absorção no organismo humano				
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b>	23h
<b>Membros:</b>	Profa. Dra. Yohandra Reyes Torres (UNICENTRO) - Responsável (2h) Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia (UNICENTRO) - (1h) Bolsista Técnico II (20 h)				

<b>Atividades (2.2.5):</b>	Avaliação da atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral				
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b>	23h
<b>Membros:</b>	Profa. Dra. Yohandra Reyes Torres (UNICENTRO) - Responsável (2h)				

	Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia (UNICENTRO) - (1h) Bolsista Técnico II (20 h)
--	---

### META 2.3 VALORIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS REGIONAIS

<b>Atividades (2.3.1):</b>	Identificação da origem botânica do mel e/ou própolis e/ou geoprópolis produzidos por diferentes espécies de abelhas			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 46h
<b>Membros:</b>	Prof. Dr. Paulo Roberto Da Silva (UNICENTRO) - Responsável (2h) Prof. Dr. João Marcelo Deliberador Miranda (UNICENTRO) (1h) Profa. Dra. Maria Luisa Tunes Buschini (UNICENTRO) (1h) Profa. Dra. Renata Mussoi Giacomini (UNICENTRO) (1h) Profa. Dra. Silvia Helena Sofia (UEL) (1h) Pós-doc Junior (40h)			

<b>Atividades (2.3.2):</b>	Prospecção de microrganismos benéficos no mel e avaliação do potencial de produção de compostos antimicrobianos			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 24h
<b>Membros:</b>	Renato Eising (UTFPR-TOO) - Responsável (2h) Cleverson Busso (UTFPR-TOO) - (1) Paulo Roberto Da Silva (UNICENTRO) (1h) Bolsista Técnico II (20h)			

<b>Atividades (2.3.3):</b>	Análise para solicitar selo de D.O. para méis que já possuem I.P. do Paraná			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 45h
<b>Membros:</b>	Regina Conceição Garcia (Unioeste - MCR) - Responsável (2h) Ericson Hideki Hayakawa (Unioeste - MCR) - (1h) Edmar s. de Vasconcelos (Unioeste - MCR) - (1h) Samuel Nicolau Hanel (Unioeste - MCR) - (1h) Bolsista Técnico II - (20h) Iniciação científica (20h)			

<b>Atividades (2.3.4):</b>	Avaliação para obtenção do selo de certificação orgânica			
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b>	Mês 48	<b>C. H. S.:</b> 45h
<b>Membros:</b>	Regina Conceição Garcia (Unioeste - MCR) - Responsável (2h) Ericson Hideki Hayakawa (Unioeste - MCR) - (1h) Edmar s. de Vasconcelos (Unioeste - MCR) - (1h) Samuel Nicolau Hanel (Unioeste - MCR) - (1h) Bolsista Técnico II - (20h) Iniciação científica (20h)			

### EIXO 3: MELHORAMENTO GENÉTICO

#### META 3.1 MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS *APIS MELLIFERA* AFRICANIZADAS

<b>Atividade 3.1.1</b>	Melhoramento da produção de mel por meio de marcadores genéticos				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	24	<b>C. H. S.:</b>	26
<b>Membros:</b>	Vagner de Alencar Arnaut de Toledo (UEM) - Responsável (2h) Maria Claudia Colla Ruvolo Takasusuki (UEM) - (1h) Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) - (1h) Eliane Gasparino (UEM) - (1h) Carlos Antonio Lopes de Oliveira (UEM) - (1h) BTII - (20h)				
<b>Atividade 3.1.2</b>	Melhoramento da produção de mel e robustez de abelhas por meio de avaliação genética animal				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	24	<b>C. H. S.:</b>	46
<b>Membros:</b>	Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) - Responsável (2h) Michele Potrich (UTFPR) - (1h) Vagner de Alencar Arnaut de Toledo (UEM) - (1h) Carlos Antonio Lopes de Oliveira (UEM) - (1h) Eliane Gasparino (UEM) - (1h) PDJ - (20h) IC - (20h)				

<b>Atividade 3.1.3</b>	Monitoramento da qualidade de rainhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas em estoques comerciais				
<b>Início:</b>	12	<b>Duração:</b>	36	<b>C.H.S.:</b>	44
<b>Membros:</b>	Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) - Responsável (2h) Vagner de Alencar Arnaut de Toledo (UEM) - (1h) Michele Potrich (UTFPR) - (1h) BTII- (20h) IC - (20h)				
<b>Atividade 3.1.4</b>	Produção de zangões e sêmen para programas de melhoramento genético de abelhas				
<b>Início:</b>	24	<b>Duração:</b>	24	<b>H.S.:</b>	45
<b>Membros:</b>	Fabiana Martins Costa (UTFPR-DV) - Responsável (2h) Vagner de Alencar Arnaut de Toledo (UEM) - (1h) Michele Potrich (UTFPR) - (1h) IC - (20h)				

### EIXO 4. DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE ABELHAS PARANAENSES

#### META 4.1: DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS

<b>Atividades (4.1.1):</b>	Taxonomia de espécies de abelhas, visando a delimitação de espécies e constante atualização da lista de espécies, ameaçadas e sua distribuição para o
----------------------------	---

	estado		
<b>Início:</b>	Mês 1	<b>Duração:</b> 36	<b>C. H. S.:</b> 24
<b>Membros:</b>	Rodrigo Barbosa Gonçalves (UFPR) -2h (responsável) Gabriel Augusto Rodrigues de Melo (UFPR) - 1h Luiz Roberto R. Faria Junior (UNILA) - 1h Bolsista PDJ (UFPR) – 10		

<b>Atividades (4.1.2):</b>	Contribuição para a identificação morfológica e molecular de espécies de abelhas sem ferrão criadas em meliponários		
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b> 36	<b>C. H. S.:</b> 43
<b>Membros:</b>	Rodrigo Barbosa Gonçalves (UFPR) -2h (responsável) Gabriel Augusto Rodrigues de Melo (UFPR) - 1h Bolsista PDJ (UFPR) - 10h		

<b>Atividades (4.1.3):</b>	Verificação como o tamanho, forma e assimetria das asas, diversidade das espécies e interações com plantas é influenciada pela estrutura da paisagem e pelo uso da terra		
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b> 36	<b>C. H. S.:</b> 64
<b>Membros:</b>	Rodrigo Barbosa Gonçalves (UFPR) -2h (responsável) Luiz Roberto R. Faria Junior (UNILA) - 1h Maria Luisa Tunes Buschini (UNICENTRO) - 1h Bolsista BTII (UFPR) - 20 Bolsista BTII (UNILA) - 20 Bolsista IC (UNILA) - 20		

<b>Atividades (4.1.4):</b>	Detecção de metais pesados no mel de abelhas-sem-ferrão em ambiente urbano visando a segurança alimentar e ambiental		
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b> 36	<b>C. H. S.:</b> 22
<b>Membros:</b>	Rodrigo Barbosa Gonçalves (UFPR) -2h (responsável) Bolsista IC (UFPR) - 20		

<b>Atividades (4.1.5):</b>	Avaliação de parques e jardins urbanos e estruturas amigáveis às abelhas solitárias		
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b> 36	<b>C. H. S.:</b> 22
<b>Membros:</b>	Silvia Helena Sofia (UEL) - 2h (Responsável) Bolsista PDJ (UEL) - 20h		

**META 4.2: ECOLOGIA ALIMENTAR, SOBREPOSIÇÃO DE NICHOS E MANEJO DE ABELHAS SEM FERRÃO EM MELIPONÁRIOS**

<b>Atividades (4.2.1):</b>	Caracterização da dieta polínica das principais espécies de abelhas sem ferrão criadas por meliponicultores				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	36	<b>C. H. S.:</b>	43
<b>Membros:</b>	João Marcelo Deliberador Miranda (Unicentro) - 2h (Responsável) Paulo Roberto Da Silva (UNICENTRO) - 1h Amanda Garçoa Raulik (Doutoranda) - 20h Bolsista Técnico II - 20h				

<b>Atividades (4.2.2):</b>	Análise dos padrões de redes de interações e de sobreposição de nichos				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	36	<b>C. H. S.:</b>	42
<b>Membros:</b>	João Marcelo Deliberador Miranda (Unicentro) - (2h) Amanda Garçoa Raulik (Doutoranda) (20h) Bolsista Técnico II - (20h)				

<b>Atividades (4.2.3):</b>	Proposição uma forma de consorciar espécies em meliponários de forma a minimizar a sobreposição de nicho alimentar, potencializando a produção de mel e de enxame				
<b>Início:</b>	13	<b>Duração:</b>	36	<b>C. H. S.:</b>	42
<b>Membros:</b>	João Marcelo Deliberador Miranda (Unicentro) - (2h) Amanda Garçoa Raulik (Doutoranda) (20h) Bolsista Técnico II - (20h)				

## EIXO 5. ESCOLA DE NEGÓCIOS

### META 5.1 QUALIDADE & NEGÓCIOS

<b>Atividades (5.1.1):</b>	Métricas de qualidade na produção de méis				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	24	<b>C. H. S.:</b>	12h
<b>Membros:</b>	Wilma A. Spioza (responsável) - UEL 2h Carlos Eduardo Caldarelli – UEL 2h Bolsista de pós-Doutorado – UEL 8h				

<b>Atividades (5.1.2):</b>	Relação entre produção, qualidade e preços				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	48	<b>C.H.S.:</b>	12h
<b>Membros:</b>	Carlos Eduardo Caldarelli (responsável) - UEL 2h Bolsista de pós-doutorado – UEL 8h Bolsista de IC – UEL 2h				

<b>Atividades (5.1.3):</b>	Mapeamento da cadeia produtiva de méis no Paraná: Melhoramento de apiários (gestão e qualidade)				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	24	<b>C. H. S.:</b>	14h
<b>Membros:</b>	Carlos Eduardo Caldarelli (responsável) - UEL 2h Wilma A. Spinoza – UEL 2h Bolsista de pós-doutorado – UEL 8h Bolsista de IC – UEL 2h				

#### META 5.2 SUSTENTABILIDADE, GESTÃO E CERTIFICAÇÃO

<b>Atividades (5.2.1):</b>	Localização e especialização da produção - Estudos prospectivos				
<b>Início:</b>	1	<b>Duração:</b>	48	<b>C. H. S.:</b>	12h
<b>Membros:</b>	Carlos Eduardo Caldarelli (responsável) - UEL 2h Bolsista de pós-doutorado – UEL 8h Bolsista de IC – UEL 2h				

<b>Atividades (5.2.2):</b>	Certificação, qualidade e sustentabilidade – Estudo prospectivo e protocolo para produtores: produção, qualidade, rotulagens e embalagens.				
<b>Início:</b>	12	<b>Duração:</b>	36	<b>C. H. S.:</b>	12h
<b>Membros:</b>	Carlos Eduardo Caldarelli (responsável) - UEL 2h Wilma A. Spinoza – UEL 2h Bolsista de pós-doutorado – UEL 8h Bolsista de IC – UEL 2h				

<b>Atividades (5.2.3):</b>	Escola de negócios - Protocolo para a cadeia produtiva de méis no Paraná: estratégias de economia e marketing para diferentes nichos de mercado				
<b>Início:</b>	6	<b>Duração:</b>	42	<b>C. H. S.:</b>	12h
<b>Membros:</b>	Carlos Eduardo Caldarelli (responsável) - UEL 2h Wilma A. Spinoza – UEL 2h Bolsista de pós-doutorado – UEL 8h Bolsista de IC – UEL 2h				

\* C.H.S – Carga horária semanal

## 6 CRONOGRAMA FÍSICO

### EIXO 1: RISCO DE AGROTÓXICOS ÀS ABELHAS

Item	Metas e Atividades	Indicador Físico de Execução	Duração prevista	
			Início Mês/Ano	Fim Mês/Ano
<b>EIXO 1</b>	<b>Risco de agrotóxicos às abelhas</b>		<b>Mês 1</b>	<b>Mês 48</b>
Meta 1.1	Avaliação do risco de Agrotóxicos (herbicidas, fungicidas, inseticidas químicos, biológicos e botânicos) a abelhas ( <i>Apis mellifera</i> e <i>Meliponini</i> – sem ferrão)		Mês 1	Mês 48
Atividade 1.1.1	Ação dos agrotóxicos, por pulverização direta, via alimentação e por contato, sobre operárias;	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de uma lista de agentes de controle seguros para as abelhas, bem como as especificações para uso, a fim de preservar estas abelhas;</li> <li>- Elaboração de uma cartilha com a popularização dos estudos publicados em artigos científicos em linguagem clara e acessível aos produtores e demais interessados;</li> <li>- Publicação de artigos científicos;</li> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de</li> </ul>	Mês 1	Mês 48

		<p>graduação e pós-graduação;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> <li>- Realização de workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</li> <li>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>		
<p>Atividade 1.1.2</p>	<p>Testes de toxicidade sobre operárias – OECD</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de uma lista de agentes de controle seguros para as abelhas, bem como as especificações para uso, a fim de preservar estas abelhas;</li> <li>- Elaboração de uma cartilha com a popularização dos estudos publicados em artigos científicos em linguagem clara e acessível aos produtores e demais interessados;</li> <li>- Publicação de artigos científicos;</li> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</li> <li>- Elaboração de Trabalhos de</li> </ul>	<p>Mês 1</p>	<p>Mês 48</p>

		<p>Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</p> <p>- Realização de workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</p> <p>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</p>		
<p>Atividade 1.1.3</p> <p>Ação dos agrotóxicos sobre larvas e a produção de rainhas</p>		<p>- Elaboração de uma lista de agentes de controle seguros para as abelhas, bem como as especificações para uso, a fim de preservar estas abelhas;</p> <p>- Publicação de artigos científicos;</p> <p>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</p> <p>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</p> <p>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</p> <p>- Realização de workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</p> <p>- Divulgação dos resultados em redes</p>	<p>Mês 1</p>	<p>Mês 48</p>

		<p>sociais e outros meios de comunicação.</p>		
<p>Atividade 1.1.4</p>	<p>Análise de comportamento e capacidade de voo de abelhas com auxílio de Inteligência Artificial (IA)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Elaboração de uma metodologia em IA para análise deste e de outros parâmetros;</li> <li>- Publicação de artigos científicos;</li> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</li> <li>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> <li>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>	<p>Mês 1</p>	<p>Mês 48</p>
<p>Atividade 1.1.5</p>	<p>Avaliação de parâmetros biológicos e histológicos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</li> <li>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> </ul>	<p>Mês 1</p>	<p>Mês 48</p>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Realização de workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</li> <li>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>		
<p>Atividade 1.1.6</p> <p>Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Publicação de artigos científicos;</li> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</li> <li>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> <li>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>	Mês 1	Mês 48
<p>Atividade 1.1.7</p> <p>Análises bioquímicas e expressão gênica</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Publicação de artigos científicos com técnicas inovadoras de estudos de bioquímica e expressão gênica para os diferentes grupos de abelhas;</li> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> </ul>	Mês 1	Mês 48

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</li> <li>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> <li>- Realização de workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</li> <li>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>		
<p>Atividade 1.1.8</p> <p>Análise da microbiota individual e de colônia</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Publicação de artigos;</li> <li>- Apresentação dos resultados em eventos técnicos e científicos da área;</li> <li>- Formação de recursos humanos de graduação e pós-graduação;</li> <li>- Elaboração de Trabalhos de Conclusão de Curso, Dissertações e Teses, bem como relatórios técnicos;</li> <li>- Realização de workshops e eventos técnicos a fim de divulgar os resultados das pesquisas;</li> <li>- Divulgação dos resultados em redes sociais e outros meios de comunicação.</li> </ul>	<p>Mês 1</p>	<p>Mês 48</p>

--	--	--

## EIXO 2: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS E MELIPONÍCOLAS

Item	Metas e Atividades	Indicador Físico de Execução	Duração prevista	
			Início	Fim
			Mês/Ano	Mês/Ano
<b>Eixo 2</b>	<b>Caracterização e qualidade de produtos apícolas e meliponícolas</b>		<b>Mês 1</b>	<b>Mês 48</b>
Meta 2.1	Caracterização e Qualidade de Produtos Apícolas		Mês 1	Mês 48
Atividade 2.1.1	Avaliação da qualidade dos produtos apícolas do Paraná, propriedades físico-químicas, microbiológicas e melissopalinoológicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Relatórios e laudos de análise.</li> <li>- Artigos científicos.</li> <li>- Cartilha de recomendações de qualidade na produção.</li> </ul>	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.1.2	Desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos de baixo custo e rápidos para detectar modificações e adulterações nos produtos apícolas aliados a técnicas de IA (redes neurais)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Processos e produtos inovadores. Proteção intelectual.</li> <li>- Manual de prevenção de fraudes e adulterações dentro do princípio <i>farm to fork</i>.</li> </ul>	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.1.3	Georreferenciamento de apiários para melhorar a rastreabilidade dos produtos e estudar o uso e ocupação das terras	- Quantidade de apiários georreferenciados	Mês 1	Mês 48
Meta 2.2	Compostos Bioativos e Propriedades Terapêuticas de Produtos Apícolas		Mês 1	Mês 48
Atividade 2.2.1	Identificação de novos compostos bioativos	Compostos químicos identificados. Artigos científicos.	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.2.2	Quantificação de compostos bioativos e íons metálicos	Compostos/classes químicos quantificados.	Mês 1	Mês 48

		Minerais quantificados. Artigos científicos.		
Atividade 2.2.3	Estudo da bioacessibilidade e biodisponibilidade ( <i>in vitro</i> ) dos compostos orgânicos bioativos e minerais presentes	Artigos científicos. Teses doutorado.	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.2.4	Desenvolvimento de materiais com produtos apícolas para melhorar sua bioacessibilidade e absorção no organismo humano	Artigos científicos. Processos e produtos inovadores.	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.2.5	Avaliação da atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral	Artigos científicos. Teses doutorado. Dissertações Mestrado.	Mês 1	Mês 48
Meta 2.3	Valorização e Certificação de Produtos Apícolas Regionais		Mês 1	Mês 48
Atividade 2.3.1	Identificação da origem botânica do mel e/ou própolis e/ou geoprópolis produzidos por diferentes espécies de abelhas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lista de espécies de plantas forrageadas por abelhas (<i>Apis</i>, nativas solitárias e sociais).</li> <li>- Disponibilização de ao menos um material de divulgação (folder e/ou cartilha) em linguagem simples para disponibilização para apicultores e meliponicultores com lista de espécies de plantas de preferência pelos diferentes tipos de abelhas.</li> <li>- Conclusão de ao menos 2 dissertações de mestrado.</li> <li>- Publicação de ao menos 2 resumos em eventos e 2 artigos científicos em periódico.</li> </ul>	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.3.2	Prospecção de microrganismos benéficos no mel e avaliação do potencial de produção de compostos antimicrobianos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Listagem de Microrganismos detectados e estudados.</li> <li>- Material científico publicado</li> </ul>	Mês 1	Mês 48

Atividade 2.3.3	Análise para solicitar selo de D.O. para méis que já possuem I.P. do Paraná	- Número de apicultores com selo DO	Mês 1	Mês 48
Atividade 2.3.4	Avaliação para obtenção do selo de certificação orgânica	- Número de apicultores com selo de certificação orgânica	Mês 1	Mês 48

### EIXO 3: MELHORAMENTO GENÉTICO

Item	Metas e Atividades	Indicador Físico de Execução	Duração prevista	
			Início Mês/Ano	Fim Mês/Ano
<b>EIXO 3</b>	<b>Melhoramento Genético</b>		<b>Mês 1</b>	<b>Mês 48</b>
Meta 3.1	Melhoramento genético de abelhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas		Mês 1	48
Atividade e 3.1.1	Melhoramento da produção de mel por meio de marcadores genéticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Identificação de marcadores genéticos ligados à produção de mel e robustez das abelhas que possam ser utilizados futuramente em Programas de Melhoramento Genético de Abelhas</li> <li>- Estruturação de um banco de dados quantitativo com informação completa de pedigree</li> <li>- Estruturação de um modelo básico de Programa de Melhoramento Genético de Abelhas voltado para o Estado do Paraná</li> </ul>	Mês 1	Mês 24
Atividade	Melhoramento da produção de mel e robustez de abelhas por		Mês 1	Mês 24

e 3.1.2	meio de avaliação genética animal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estruturação de um banco de dados quantitativo com informação completa de pedigree</li> <li>- Identificação de apicultores e apiários que possam ser multiplicadores de material genético selecionado</li> <li>- Estruturação de um modelo básico de Programa de Melhoramento Genético de Abelhas voltado para o Estado do Paraná</li> </ul>		
Atividade e 3.1.3	Monitoramento da qualidade de rainhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas em estoques comerciais	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estruturação de um banco de dados quantitativo com informação completa de pedigree</li> <li>- Identificação de apicultores e apiários que possam ser multiplicadores de material genético selecionado</li> <li>- Estruturação de um modelo básico de Programa de Melhoramento Genético de Abelhas voltado para o Estado do Paraná</li> </ul>	12	Mês 48
Atividade e 3.1.4	Produção de zangões e sêmen para programas de melhoramento genético de abelhas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estruturação de um banco de dados quantitativo com informação completa de pedigree</li> <li>- Identificação de apicultores e apiários que possam ser multiplicadores de material</li> </ul>	24	Mês 48

	genético selecionado - Estruturação de um modelo básico de Programa de Melhoramento Genético de Abelhas voltado para o Estado do Paraná	
--	--	--

#### EIXO 4. DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE ABELHAS PARANAENSES

Item	Metas e Atividades	Indicador Físico de Execução	Duração prevista	
			Início Mês/Ano	Fim Mês/Ano
<b>Eixo 4</b>	<b>Diversidade, ecologia e conservação de abelhas paranaenses</b>		<b>Mês 1</b>	<b>Mês 48</b>
Meta 4.1	Diversidade de espécies de abelhas nativas e suas respostas a pressões antrópicas		Mês 1	Mês 48
Atividade e 4.1.1	Taxonomia de espécies de abelhas, visando a delimitação de espécies e constante atualização da lista de espécies, ameaçadas e sua distribuição para o estado	- Relatório associado com base de dados e lista de espécies para o estado; - Lista de espécies avaliadas, e mapas de distribuição de espécies	Mês 1	Mês 48
Atividade e 4.1.2	Contribuição para a identificação morfológica e molecular de espécies de abelhas sem ferrão criadas em meliponários	- Base de dados com material testemunho com identificação de espécies de meliponários - Produção de guia de espécies de ASF para o estado	Mês 1	Mês 48
Atividade e 4.1.3	Verificação como o tamanho, forma e assimetria das asas, diversidade das espécies e interações com plantas influenciada pela estrutura da paisagem e pelo uso da terra	- Relatório compilando esforços em detectar as influências da paisagem e uso da terra sobre as abelhas	Mês 1	Mês 48

Atividade e 4.1.4	Deteção de metais pesados no mel de abelhas-sem-ferrão em ambiente urbano visando a segurança alimentar e ambiental	- Relatório por localidade indicando os níveis de metais pesados e exarando parecer sobre segurança alimentar e ambiental	Mês 1	Mês 48
Atividade e 4.1.5	Avaliação de parques e jardins urbanos e estruturas amigáveis às abelhas solitárias	- Cartilha contendo boas práticas estruturais e de manejo para potencializar a presença de polinizadores	Mês 1	Mês 48
Meta 4.2	Ecologia alimentar, sobreposição de nicho e manejo de abelhas sem ferrão em meliponários		Mês 1	Mês 48
Atividade e 4.2.1	Análise da dieta das principais espécies de abelhas sem ferrão criadas por meliponicultores	- Relatório apontando quais as espécies de plantas mais utilizadas pelas diversas espécies de abelhas sem ferrão, indicando época de florada.	Mês 1	Mês 36
Atividade e 4.2.2	Análise dos padrões de redes de interações e de sobreposição de nichos tróficos	- Relatório técnico apontando as variações nas redes de interação abelha-planta, sendo variações sazonais e de paisagem associadas aos meliponários. Neste relatório serão apontadas variáveis que aumentam a sobreposição de nicho trófico e que poderiam ser evitadas pelos criadores a fim de melhorar sua produção.	Mês 1	Mês 36
Atividade e 4.2.3	Proposta de conjuntos de espécies de abelhas sem ferrão a serem consorciadas de forma a minimizar a sobreposição de nicho alimentar	- Cartilha explicativa sobre a possível competição alimentar entre espécies e mesmo entre enxames e propondo conjuntos de espécies a serem criadas consorciadas a fim de otimizar a produção de enxames e produtos meliponícolas.	Mês 13	Mês 48

## EIXO 5. ESCOLA DE NEGÓCIOS

Item	Metas e Atividades	Indicador Físico de Execução	Duração prevista		
			Início	Fim	
			Mês/Ano	Mês/Ano	
			Mês 1	Mês 48	
<b>EIXO 5</b>	<b>Escola de Negócios</b>				
META 5.1	Qualidade & Negócios	Mês 1	Mês 48		
Atividade 5.1.1	Métricas de qualidade na produção de méis		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sistematizar a produção do conhecimento sobre sustentabilidade, gestão e certificação por meio de artigos científicos sobre apicultura e essas temáticas em uma análise bibliométrica;</li> </ul>	Mês 24	
Atividade 5.1.2	Relação entre produção, qualidade e preços		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desenhar modelos de gestão que associem qualidade e rentabilidade;</li> <li>- Promover dia de campo sobre apicultura e negócios (qualidade, gestão econômica, financeira e crédito, marketing e sustentabilidade).</li> </ul>	Mês 1	Mês 48
Atividade 5.1.3	Mapeamento da cadeia produtiva de méis no Paraná		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sistematizar a cadeia produtiva do estado</li> </ul>	Mês 1	Mês 36

			<p>por meio de estudo com mapeamento dos elos da cadeia produtiva e pontos de conexão;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Desenhar modelos de gestão que associem qualidade e rentabilidade;</li> </ul>		
META 5.2	Sustentabilidade, gestão e certificação	Mês 1	Mês 48		
Atividade 5.2.1	Localização e especialização da produção - Estudos prospectivos		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prospear sobre a dinâmica regional da produção de méis no Paraná;</li> <li>- Elaborar estudo com coeficientes locacionais da produção, especialização espacial;</li> <li>- Desenvolver as capacidades regionais na produção de méis; matriz SWOT</li> </ul>	Mês 1	Mês 48
Atividade 5.2.2	Certificação, qualidade e sustentabilidade – Estudo prospectivo e protocolo para produtores: produção, qualidade, rotulagens e embalagens.		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Workshop sobre qualidade, sustentabilidade e certificação;</li> <li>- Elaborar uma apostila</li> </ul>	Mês 12	Mês 48

Atividade 5.2.3	Escola de negócios - Protocolo para a cadeia produtiva de méis no Paraná: estratégias de economia e marketing para diferentes nichos de mercado	com os 10 passos para certificação; detalhadamente e circunstanciada.		
		<ul style="list-style-type: none"><li>- Sistematizar uma sequência de elementos-chaves para a gestão, qualidade e intervenção por meio de treinamentos a se compor a Escola de Negócios (apostila);</li><li>- Workshop sobre qualidade, sustentabilidade e certificação;</li></ul>	Mês 6	Mês 48

**7 CRONOGRAMA FINANCEIRO**

METAS FINANCEIRAS		PERÍODO										TOTAL		
		Ano I		Ano II		Ano III		Ano IV		TOTAL				
		1º Sem. 2024/2	2º Sem. 2025/1	1º Sem. 2025/2	2º Sem. 2026/1	1º Sem. 2026/2	2º Sem. 2027/1	1º Sem. 2027/2	2º Sem. 2028/1	1º Sem.	2º Sem.			
<b>DESPESAS FINANCEIÁVEIS</b>														
Equipamentos e material permanente	R\$ 562.000,00	R\$ 59.000,00	R\$ 77.000,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 81.742,30	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 698.000,00
Material de Consumo	R\$ 63.000,00	R\$ 15.000,00	R\$ 92.600,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 81.742,30	R\$ 7.500,00	R\$ 16.000,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 285.842,30
Serviços de Terceiros	R\$ 34.000,00	R\$ 0,00	R\$ 5.500,00	R\$ 0,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 0,00	R\$ 10.000,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 62.500,00
Manutenção de equipamentos	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Software	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Passagens	R\$ 15.000,00	R\$ 6.500,00	R\$ 11.500,00	R\$ 8.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 3.000,00	R\$ 57.000,00
Diárias	R\$ 19.062,00	R\$ 19.072,00	R\$ 16.130,10	R\$ 15.497,00	R\$ 16.130,10	R\$ 16.130,10	R\$ 14.230,80	R\$ 12.351,50	R\$ 12.351,50	R\$ 12.351,50	R\$ 1.115,60	R\$ 1.115,60	R\$ 1.115,60	R\$ 113.589,10
Despesas Acessórias de Importação	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Bolsas	R\$ 87.600,00	R\$ 231.150,00	R\$ 416.550,00	R\$ 379.350,00	R\$ 370.200,00	R\$ 370.200,00	R\$ 306.450,00	R\$ 126.000,00	R\$ 126.000,00	R\$ 126.000,00	R\$ 83.400,00	R\$ 83.400,00	R\$ 83.400,00	R\$ 2.000.700,00
Despesas Operacionais	R\$ 35.933,65	R\$ 13.956,90	R\$ 26.470,85	R\$ 16.862,35	R\$ 20.195,47	R\$ 20.195,47	R\$ 13.349,04	R\$ 6.340,24	R\$ 6.340,24	R\$ 6.340,24	R\$ 2.725,78	R\$ 2.725,78	R\$ 2.725,78	R\$ 135.834,28
Serviços de Consultoria	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Locação de veículos	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Combustível	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00	R\$ 0,00
<b>TOTAL GERAL</b>	<b>R\$ 816.595,65</b>	<b>R\$ 344.678,90</b>	<b>R\$ 640.250,95</b>	<b>R\$ 429.709,35</b>	<b>R\$ 498.267,87</b>	<b>R\$ 344.529,84</b>	<b>R\$ 163.691,74</b>	<b>R\$ 87.241,38</b>	<b>R\$ 3.353.465,68</b>	<b>R\$ 87.241,38</b>	<b>R\$ 87.241,38</b>	<b>R\$ 87.241,38</b>	<b>R\$ 87.241,38</b>	<b>R\$ 3.353.465,68</b>

## 8. PLANO DE METAS E ETAPAS

### EIXO 1: RISCO DE AGROTÓXICOS ÀS ABELHAS

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (APIS MELLIFERA E MELIPONINI – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 1.1.1 Ação dos agrotóxicos, por pulverização direta, via alimentação e por contato, sobre operárias;	
	Descrição da Etapa/Fase: Etapa destina a testar o efeito de diferentes agrotóxicos sobre as abelhas, com foco na análise de sobrevivência	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 95.000,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (APIS MELLIFERA E MELIPONINI – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 1.1.2 Testes de toxicidade sobre operárias – OECD	
	Descrição da Etapa/Fase: Etapa destinada aos testes de agrotóxicos, especialmente inseticidas sintéticos, sobre <i>Apis mellifera</i> , conforme preconizado pela OECD.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 134.00,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (APIS MELLIFERA E MELIPONINI – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 1.1.3 Ação dos agrotóxicos sobre larvas e a produção de rainhas	
	Descrição da Etapa/Fase: Os agrotóxicos serão testados aqui em diferentes fases de desenvolvimento das abelhas, a fim de verificar se os efeitos ou a ausência de efeitos são os mesmos.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 100.00,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (<i>APIS MELLIFERA</i> E <i>MELIPONINI</i> – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 1.1.4 Análise de comportamento e capacidade de voo de abelhas com auxílio de Inteligência Artificial (IA)	
	Descrição da Etapa/Fase: Etapa para avaliar o efeito subletal dos agrotóxicos em abelhas, para isto, o comportamento e a capacidade de voo das abelhas serão analisados.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 56.000,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (<i>APIS MELLIFERA</i> E <i>MELIPONINI</i> – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 1.1.5 Avaliação de parâmetros biológicos e histológicos	
	Descrição da Etapa/Fase: Nesta etapa os parâmetros biológicos e histológicos, tanto de operárias, larvas e rainhas serão mensurados, a fim de verificar efeitos adversos dos agrotóxicos sobre a morfologia interna e externa das abelhas.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 56.000,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (<i>APIS MELLIFERA</i> E <i>MELIPONINI</i> – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 1.1.6 Avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura	
	Descrição da Etapa/Fase: Nesta etapa será analisada os efeitos sobre a morfologia externa com auxílio de Microscopia Eletrônica de Varredura	
	Período de realização: Início: 01/07/2025 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 150.00,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (<i>APIS MELLIFERA</i> E <i>MELIPONINI</i> – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 1.1.7 Análises bioquímicas e expressão gênica	

	Descrição da Etapa/Fase: Análise do efeito dos agrotóxicos sobre parâmetros bioquímicos e genéticos em abelhas.	
	Período de realização: Início: 01/07/2025 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 150.00,00

<b>META nº 1.1</b>	<b>Descrição da meta: AVALIAÇÃO DO RISCO DE AGROTÓXICOS (HERBICIDAS, FUNGICIDAS, INSETICIDAS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E BOTÂNICOS) A ABELHAS (APIS MELLIFERA E MELIPONINI – SEM FERRÃO)</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 1.1.8 Análise da microbiota individual e de colônia	
	Descrição da Etapa/Fase: Análise da Microbiota de abelhas depois de serem expostas aos agrotóxicos.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 - Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 85.00,00

## EIXO 2: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS E MELIPONÍCOLAS

<b>META nº 2.1</b>	<b>Descrição da meta: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.1.1 Avaliação da qualidade dos produtos apícolas do Paraná, propriedades físico-químicas, microbiológicas e melissopalínológicas	
	Descrição da Etapa/Fase: Meta destinada a utilizar diferentes fretes de análises para avaliar, garantir e induzir a qualidade de produtos apícolas	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 436.000,00

<b>META nº 2.1</b>	<b>Descrição da meta: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.1.2 Desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos de baixo custo e rápidos para detectar modificações e adulterações nos produtos apícolas aliados a técnicas de IA (redes neurais)	
	Descrição da Etapa/Fase: colaborar para a qualidade de produto por meio da identificação de adulterações em produtos apícolas, reduzindo possíveis fraudes na cadeia produtiva, que impedem seu pleno desenvolvimento	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 96.000,00

<b>META nº 2.1</b>	<b>Descrição da meta: CARACTERIZAÇÃO E QUALIDADE DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.1.3 Georreferenciamento de apiários para melhorar a rastreabilidade dos produtos e estudar o uso e ocupação das terras	
	Descrição da Etapa/Fase: Assegurar qualidade e confiança nos produtos apícolas produzidos nas diferentes regiões do Paraná, com visão para o aumento no valor agregado e nas exportações	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 34.334,55

<b>META nº 2.2</b>	<b>Descrição da meta: COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.2.1 Identificação de novos compostos bioativos	
	Descrição da Etapa/Fase: ampliar o escopo de novos produtos farmacológicos gerados a partir de novos compostos bioativos identificados em sua estrutura química e posterior aplicação comercial	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 69.770,70

<b>META nº 2.2</b>	<b>Descrição da meta: COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.2.2 Quantificação de compostos bioativos e íons metálicos	
	Descrição da Etapa/Fase: determinar a composição quantitativa de compostos e íons metálicos que possam ser utilizados em produtos terapêuticos.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 69.770,70

<b>META nº 2.2</b>	<b>Descrição da meta: COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.2.3 Estudo da bioacessibilidade e biodisponibilidade (in vitro) dos compostos orgânicos bioativos e minerais presentes	
	Descrição da Etapa/Fase: após identificar e quantificar compostos presentes nos produtos apícolas, os estudos de bioacessibilidade e biodisponibilidade permitirão avaliar possíveis novas formas farmacêuticas.	

	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 69.770,70
--	---	-------------------------------

<b>META nº 2.2</b>	<b>Descrição da meta: COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.2.4 Desenvolvimento de materiais com produtos apícolas para melhorar sua bioacessibilidade e absorção no organismo humano	
	Descrição da Etapa/Fase: desenvolver novos materiais para melhorar a segurança e a estabilidade dos compostos bioativos e controlar a cinética de liberação dos mesmos.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 69.770,70

<b>META nº 2.2</b>	<b>Descrição da meta: COMPOSTOS BIOATIVOS E PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS DE PRODUTOS APÍCOLAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.2.5 Avaliação da atividade antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral.	
	Descrição da Etapa/Fase: permitirá avaliar os compostos bioativos identificados nos produtos apícolas como agentes antioxidantes ou com propriedades anti-inflamatórias ou anti tumorais, com possível grande impacto na saúde pública	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 69.770,70

<b>META nº 2.3</b>	<b>Descrição da meta: VALORIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS REGIONAIS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 2.3.1 Identificação da origem botânica do mel e/ou própolis e/ou geoprópolis produzidos por diferentes espécies de abelhas	
	Descrição da Etapa/Fase: conhecer o ambiente no qual as abelhas coletam seus substratos (pólen, néctar), identificar espécies visitadas por estas abelhas e quais possíveis impactos ambientais estão influenciando o setor apícola.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 69.770,70

<b>META nº 2.3</b>	<b>Descrição da meta: VALORIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS REGIONAIS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48

Etapa/Fase nº 2.3.2 Prospecção de microrganismos benéficos no mel e avaliação do potencial de produção de compostos antimicrobianos		
Descrição da Etapa/Fase: conhecer microorganismos presentes no mel de diferentes espécies de abelhas que possam ser utilizados farmacologicamente como antimicrobianos		
Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028		Valor Previsto: R\$ 69.770,70

<b>META nº 2.3</b>	<b>Descrição da meta: VALORIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS REGIONAIS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
Etapa/Fase nº 2.3.3 Análise para solicitar selo de D.O. para méis que já possuem I.P. do Paraná		
Descrição da Etapa/Fase: Os selos de Indicação Geográfica, concedidos pelo INPI, podem agregar valor aos produtos das abelhas, como ocorre em diversos produtos de outras origens, em todo o mundo. Os selos de Denominação de Origem (DO) correlacionam as características do produto precisam ao seu local de origem, importantíssimo para os produtores ampliarem seu mercado interno e externo		
Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028		Valor Previsto: R\$ 90.000,00

<b>META nº 2.3</b>	<b>Descrição da meta: VALORIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE PRODUTOS APÍCOLAS REGIONAIS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
Etapa/Fase nº 2.3.4 Avaliação para obtenção do selo de certificação orgânica		
Descrição da Etapa/Fase: Para a obtenção da certificação orgânica será avaliado o cumprimento de várias condições pelo produtor, desde a legalidade da propriedade, dos trabalhadores envolvidos, das características do solo e da água, dos processos de produção, da qualidade dos produtos, entre outros, especificados na legislação nacional e internacional. Para que essas condições sejam atestadas, existem algumas formas de controle, que atuam de formas diversas, com o objetivo da obtenção da certificação orgânica: o Controle Social, a Certificação Participativa e a Certificação Auditada, que serão utilizadas nesta etapa		
Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028		Valor Previsto: R\$ 9.134,55

### EIXO 3: MELHORAMENTO GENÉTICO

<b>META nº 3.1</b>	<b>Descrição da meta: MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS <i>APIS MELLIFERA</i> AFRICANIZADAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 24
	Etapa/Fase nº 3.1.1	
	Descrição da Etapa/Fase: Melhoramento da produção de mel por meio de marcadores genéticos	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 01/07/2026	Valor Previsto: R\$ 192.600,00

<b>META nº 3.1</b>	<b>Descrição da meta: MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS <i>APIS MELLIFERA</i> AFRICANIZADAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 24
	Etapa/Fase nº 3.1.2	
	Descrição da Etapa/Fase: Melhoramento da produção de mel e robustez de abelhas por meio de avaliação genética animal	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 01/07/2026	Valor Previsto: R\$ 192.600,00

<b>META nº 3.1</b>	<b>Descrição da meta: MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS <i>APIS MELLIFERA</i> AFRICANIZADAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 3.1.3	
	Descrição da Etapa/Fase: Monitoramento da qualidade de rainhas <i>Apis mellifera</i> africanizadas em estoques comerciais	
	Período de realização: Início: 01/07/2025      Término: 01/07/2028	Valor Previsto: R\$ 42.600,00

<b>META nº 3.1</b>	<b>Descrição da meta: MELHORAMENTO GENÉTICO DE ABELHAS <i>APIS MELLIFERA</i> AFRICANIZADAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 24
	Etapa/Fase nº 3.1.4	
	Descrição da Etapa/Fase: Produção de zangões e sêmen para programas de melhoramento genético de abelhas	
	Período de realização: Início: 01/07/2026      Término: 01/07/2028	Valor Previsto: R\$ 12.600,00

**EIXO 4. DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE ABELHAS PARANAENSES**

<b>META nº 4.1</b>	<b>Descrição da meta: DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade:48
	Etapa/Fase nº 4.1.1	
	Descrição da Etapa/Fase Taxonomia de espécies de abelhas, visando a delimitação de espécies e constante atualização da lista de espécies, ameaçadas e sua distribuição para o estado	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 165.852,75

<b>META nº 4.1</b>	<b>Descrição da meta: DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade:48
	Etapa/Fase nº 4.1.2	
	Descrição da Etapa/Fase Contribuição para a identificação morfológica e molecular de espécies de abelhas sem ferrão criadas em meliponários	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 165.852,75

<b>META nº 4.1</b>	<b>Descrição da meta: DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade:48
	Etapa/Fase nº 4.1.3	
	Descrição da Etapa/Fase Verificação como o tamanho, forma e assimetria das asas, diversidade das espécies e interações com plantas influenciada pela estrutura da paisagem e pelo uso da terra	
	Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 219.594,75

<b>META nº 4.1</b>	<b>Descrição da meta: DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade:48
	Etapa/Fase nº 4.1.4	
	Descrição da Etapa/Fase Detecção de metais pesados no mel de abelhas-sem-ferrão em ambiente urbano	

	visando a segurança alimentar e ambiental	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 32.538,45

<b>META nº 4.1</b>	<b>Descrição da meta: DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS E SUAS RESPOSTAS A PRESSÕES ANTRÓPICAS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade:48
	Etapa/Fase nº 4.1.5	
	Descrição da Etapa/Fase Avaliação de parques e jardins urbanos e estruturas amigáveis às abelhas solitárias	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2028	Valor Previsto: R\$ 138.000,00

<b>META nº4.2</b>	<b>Descrição da meta: ECOLOGIA ALIMENTAR, SOBREPOSIÇÃO DE NICHOS E MANEJO DE ABELHAS SEM FERRÃO EM MELIPONÁRIOS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 4.2.1 Caracterização da dieta das principais espécies de abelhas sem ferrão criadas em meliponários na região Centro-Sul do Paraná	
	Descrição da Etapa/Fase Análise da dieta das principais espécies de abelhas sem ferrão criadas por meliponicultores	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2027	Valor Previsto: R\$ 50.000,00

<b>META nº4.2</b>	<b>Descrição da meta: ECOLOGIA ALIMENTAR, SOBREPOSIÇÃO DE NICHOS E MANEJO DE ABELHAS SEM FERRÃO EM MELIPONÁRIOS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 4.2.2 Análise dos padrões de redes de interação e sobreposição de nicho alimentar	
	Descrição da Etapa/Fase Análise dos padrões de redes de interações e de sobreposição de nichos tróficos	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 30/06/2027	Valor Previsto: R\$ 80.000,00

<b>META nº4.2</b>	<b>Descrição da meta: ECOLOGIA ALIMENTAR, SOBREPOSIÇÃO DE NICHOS E MANEJO DE ABELHAS SEM FERRÃO EM MELIPONÁRIOS</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 4.2.3 Proposta de conjuntos de espécies de abelhas sem ferrão a serem consorciadas de forma a minimizar as sobreposições de nicho alimentar	

	<p>Descrição da Etapa/Fase</p> <p>Proposição de consorciar espécies em meliponários de forma a minimizar a sobreposição de nicho alimentar, potencializando a produção de mel e de enxames</p>	
	<p>Período de realização: Início: 01/07/2025      Término: 30/06/2028</p>	<p>Valor Previsto: R\$ 75.000,00</p>

## EIXO 5 – ESCOLA DE NEGÓCIOS

<b>META nº 5.1</b>	<b>Descrição da meta: QUALIDADE &amp; NEGÓCIOS</b>	
	<p>Unidade de medida: mês</p>	<p>Quantidade: 24</p>
	<p>Etapa/Fase nº 5.1.1 Métrica de qualidade na produção de méis</p>	
	<p>Descrição da Etapa/Fase: Levantamento das condições de qualidade e na produção de méis no Paraná, com vistas a avaliar os nichos de mercado e produtos comercializados; Sistematizar o que se produz, o quanto e a qualidade.</p>	
	<p>Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 01/07/2026</p>	<p>Valor Previsto: R\$23.559,33</p>

<b>META nº 5.1</b>	<b>Descrição da meta: QUALIDADE &amp; NEGÓCIOS</b>	
	<p>Unidade de medida: mês</p>	<p>Quantidade: 48</p>
	<p>Etapa/Fase nº 5.1.2 Relação entre produção, qualidade e preços</p>	
	<p>Descrição da Etapa/Fase: Tendo em vista as condições de mercado e as condições de qualidade da produção de méis no estado, busca nessa etapa estabelecer as relações entre os tipos de produtos e formas/ canais de comercialização e como esses elementos se interrelacionam. Como estabelecer um modelo de comercialização que otimiza tais relações.</p>	
	<p>Período de realização: Início: 01/07/2024      Término: 01/07/2028</p>	<p>Valor Previsto: R\$23.559,33</p>

<b>META nº 5.1</b>	<b>Descrição da meta: QUALIDADE &amp; NEGÓCIOS</b>	
	<p>Unidade de medida: mês</p>	<p>Quantidade: 24</p>
	<p>Etapa/Fase nº 5.1.3 Mapeamento da cadeia de produtiva de méis no Paraná</p>	
	<p>Descrição da Etapa/Fase: Estabelecer de forma sistemática, após mapeada a</p>	

	produção, nichos de mercado e comercialização, quais são os atores e elos da cadeia produtiva apícola no Paraná. Objetivo da etapa é desenhar o perfil completo da produção com possíveis gargalos e oportunidades.	
	Período de realização: Início: 01/07/2026 Término: 01/07/2028	Valor Previsto: R\$23.559,33

<b>META nº 5.2</b>	<b>Descrição da meta: SUSTENTABILIDADE, GESTÃO E COMERCIALIZAÇÃO</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 48
	Etapa/Fase nº 5.2.1 Localização e especialização da produção - Estudos prospectivos	
	Descrição da Etapa/Fase: Com base no mapeamento da cadeia produtiva, nos elos que conectam os agentes, busca-se desenhar o mapa estadual da produção, com localização geográfica de onde se produz e quais as vocações regionais, com objetivo de fortalecer a comercialização e prospectar sobre modelos de origem geográfica/tipo do produto.	
	Período de realização: Início: 01/07/2024 Término: 01/07/2028	Valor Previsto: R\$23.559,33

<b>META nº 5.2</b>	<b>Descrição da meta: SUSTENTABILIDADE, GESTÃO E COMERCIALIZAÇÃO</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 5.2.2 Certificação, qualidade e sustentabilidade – Estudo prospectivo e protocolo para produtores: produção, qualidade, rotulagens e embalagens.	
	Descrição da Etapa/Fase: O objetivo dessa etapa é sistematizar em materiais e elementos de divulgação, em linguagem acessível, os conceitos chaves sobre certificação, qualidade, gestão e comercialização. Busca-se nessa etapa sistematizar formas de comunicação com os produtores e atores da cadeia produtiva, com intuito de estabelecer uma rede com articulação e informação de qualidade.	
	Período de realização: Início: 01/07/2025 Término: 01/07/2028	Valor Previsto: R\$23.559,33

<b>META nº 5.2</b>	<b>Descrição da meta: SUSTENTABILIDADE, GESTÃO E COMERCIALIZAÇÃO</b>	
	Unidade de medida: mês	Quantidade: 36
	Etapa/Fase nº 5.2.3 Escola de negócios - Protocolo para a cadeia produtiva de méis no Paraná: estratégias de economia e marketing para diferentes nichos de mercado	
	Descrição da Etapa/Fase: Nessa etapa, reunidas as condições teóricas de	

	mapeamento da produção e qualidade de méis no Paraná, e a rede de atores que a compõe, busca-se entregar aos produtores elementos norteadores de como agregar valor e melhorar os canais/meios e forma de comercialização. Como certificar, o que pode-se ganhar, desafios e potencialidades. Elaboração de materiais informativos/formativos.	
	Período de realização: Início: 01/01/2025 Término: 01/07/2028	Valor Previsto: R\$23.559,33

## REFERÊNCIAS

1. Abati, R. *et al.* Bees and pesticides: the research impact and scientometrics relations. *Environmental Science and Pollution Research* **28**, 32282–32298 (2021).
2. Bargańska, Ż., Ślebioda, M. & Namieśnik, J. Honey bees and their products - bioindicators of environmental contamination. *Environ Sci Technol* **46**, 235–248 (2015).
3. Battisti, L. *et al.* Is glyphosate toxic to bees? A meta-analytical review. *Science of the Total Environment* **767**, (2021).
4. Celli, G. & Maccagnani, B. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bull Insectology* **56**, 1–3 (2003).
5. Quigley, T. P., Amdam, G. V & Harwood, G. H. Honey bees as bioindicators of changing global agricultural landscapes. *Curr Opin Insect Sci* **35**, 132–137 (2019).
6. Costa-Maia, F. M., Lourenco, D. A. L. & Toledo, V. de A. A. Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. in *Sistemas de Produção Agropecuária (Ciências Agrárias, Animais e Florestais)* 46–67 (Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2010).
7. Klein, A.-M. *et al.* Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B* **274**, 303–313 (2007).
8. IPBES. *The Assessment Report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on Pollinators, Pollination and Food Production.* (Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany, 2016).
9. Bauer, D. M. & Sue Wing, I. The macroeconomic cost of catastrophic pollinator declines. *Ecological Economics* **126**, 1–13 (2016).
10. Lautenbach, S., Seppelt, R., Liebscher, J. & Dormann, C. F. Spatial and Temporal Trends of Global Pollination Benefit. *PLoS One* **7**, e35954 (2012).
11. Calderone, N. W. Insect Pollinated Crops, Insect Pollinators and US Agriculture: Trend Analysis of Aggregate Data for the Period 1992–2009. *PLoS One* **7**, 24–28 (2012).
12. BPBES. *Relatório Temático Sobre Polinização, Polinizadores e Produção de Alimentos No Brasil.* (Rede Brasileira de Interações Planta-Polinizador, Campinas, 2019).
13. Hoffmann, A. C. & Gonçalves, R. B. O valor econômico do serviço de polinização na Região Metropolitana de Curitiba. *Acta Biológica Paranaense* **52**, 1 (2023).
14. Schwartz, D. L. & A comunidade de abelhas silvestres (Hymenoptera, Apoidea) da Ilha das Cobras (Paraná, Brasil): aspectos ecológicos e biogeográficos. *Acta Biológica Paranaense* **28**, (1999).
15. Gonçalves, R. B., Graf, L. V, Pereira, F. W. & Melho, G. A. R. Apidae. in *Inventário da Fauna de Curitiba* (ed. Straube, F. C.) vol. 1 146–154 (Prefeitura Municipal de Curitiba, Curitiba, 2023).
16. Absy, M. L. & Kerr, W. E. Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra merrillae* em Manaus. *Acta Amazon* **7**, 309–315 (1977).
17. Paulo Nogueira-Neto. *Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão.* vol. 1 (Urna Edição Nogueirapis, São Paulo, 1997).
18. Jerônimo Villas-Bôas. *Manual Tecnológico: Mel de Abelhas Sem Ferrão.* vol. 1 (Instituto Sociedade, População e Natureza, Brasília, 2012).
19. Calatayud-Vernich, P., Calatayud, F., Simó, E. & Picó, Y. Pesticide residues in honey bees, pollen and

- beeswax: Assessing beehive exposure. *Environmental Pollution* **241**, (2018).
20. Mullin, C. A. *et al.* High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries : Implications for Honey Bee Health. *PlosOne* **5**, 19 (2010).
  21. Pohorecka, K., Szczęśna, T., Witek, M., Mischczak, A. & Sikorski, P. THE EXPOSURE OF HONEY BEES TO PESTICIDE RESIDUES IN THE HIVE ENVIRONMENT WITH REGARD TO WINTER COLONY LOSSES. *J Apic Sci* **61**, 105–125 (2017).
  22. Paloschi, C. L. *et al.* Imidacloprid: Impact on Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) workers and honey contamination. *Chemosphere* **338**, 139591 (2023).
  23. Amaro, P. & Godinho, J. Pesticidas e abelhas. *Revista de Ciências Agrárias* **35**, 53–62 (2012).
  24. Catae, A. F. *et al.* MALDI-imaging analyses of honeybee brains exposed to a neonicotinoid insecticide. *Pest Manag Sci* (2018) doi:10.1002/ps.5226.
  25. Tosi, S. & Nieh, J. C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, alters honey bee activity, motor functions, and movement to light. *Sci Rep* **7**, 1–13 (2017).
  26. Wolff, L. F., Reis, V. D. A. & Santos, R. S. S. *Abelhas Melíferas: Bioindicadores de Qualidade Ambiental e de Sustentabilidade Da Agricultura Familiar de Base Ecológica.* (2008).
  27. Féon, V. Le *et al.* Intensification of agriculture, landscape composition and wild bee communities: A large scale study in four European countries. *Agric Ecosyst Environ* **137**, 143–150 (2010).
  28. Herzog, F. *et al.* Assessing the intensity of temperate European agriculture at the landscape scale. *European Journal of Agronomy* **24**, 165–181 (2006).
  29. Sánchez-Bayo, F. & Wyckhuys, K. A. G. Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biol Conserv* **232**, 8–27 (2019).
  30. Bienefeld, K., Reinhardt, F. & Tierhaltung, V. I. Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects – A BLUP-Animal Model approach \*. *Apidologie* **38**, 77–85 (2007).
  31. Souza Tette, P. A., Guidi, L. R., De Abreu Glória, M. B. & Fernandes, C. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta* vol. 149 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.045> (2016).
  32. Tette, P. A. S. *et al.* Multiclass method for pesticides quantification in honey by means of modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS. *Food Chem* **211**, (2016).
  33. Chiesa, L. M. *et al.* The occurrence of pesticides and persistent organic pollutants in Italian organic honeys from different productive areas in relation to potential environmental pollution. *Chemosphere* **154**, 482–490 (2016).
  34. Galhardo, D. Caracterização físico-química, microbiológica e de compostos bioativos de amostras de mel de *Apis mellifera* L. do Oeste do Paraná, Sul do Brasil. (Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2018).
  35. GALHARDO, D. *et al.* Physicochemical, bioactive properties and antioxidant of *Apis mellifera* L. honey from western Paraná, Southern Brazil. *Food Science and Technology* **41**, 247–253 (2021).
  36. Se, K. W., Wahab, R. A., Syed Yaacob, S. N. & Ghoshal, S. K. Detection techniques for adulterants in honey: Challenges and recent trends. *Journal of Food Composition and Analysis* **80**, 16–32 (2019).
  37. Fernández, M., Picó, Y., Girotti, S. & Mañes, J. Analysis of Organophosphorus Pesticides in Honeybee by Liquid Chromatography–Atmospheric Pressure Chemical Ionization–Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem* **49**, 3540–3547 (2001).
  38. Gawęł, M. *et al.* Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Chem* **282**, (2019).
  39. Zheng, H., Steele, M. I., Leonard, S. P., Motta, E. V. S. & Moran, N. A. Honey bees as models for gut microbiota research. *Lab Anim (NY)* **47**, 317–325 (2018).
  40. Barth, O. M. *O Pólen No Mel Brasileiro.* vol. 1 (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1989).
  41. Oliveria, S. S. & Castro, M. S. Visita de abelhas africanizadas às plantas de um fragmento de mata atlântica com grande influência antrópica. in *XII CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA* (Salvador, 1998).
  42. INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. Revista da Propriedade Industrial. *INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL* 1–42 Preprint at (2017).
  43. Brighenti, D. M., Carvalho, C. F., Carvalho, G. A., Brighenti, C. R. G. & Carvalho, S. M. BIOATIVIDADE do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) para adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758

- (Hymenoptera: Apidae). *Ciencia e Agrotecnologia* **31**, 279–289 (2007).
44. a P M Baptista, a Carvalho, G., Carvalho, S. M., Carvalho, C. F. & Filho, J. S. S. B. Toxicity of pesticides used in citrus crop to *Apis mellifera*. *Ciência Rural* **39**, 955–961 (2009).
  45. Libardoni, G. *et al.* Effect of different *Bacillus thuringiensis* strains on the longevity of Africanized honey bee. *Semin Cienc Agrar* **39**, 329–338 (2018).
  46. Potrich, M. *et al.* Compatibility of *Beauveria bassiana* and alternative phytosanitary products. *J Appl Microbiol* **125**, 1802–1811 (2018).
  47. OECD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (213): Honeybees, Acute Oral Toxicity Test. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals : OECD Guidelines for the Testing of Chemicals June 2000* **213**, 1–8 (1998).
  48. OECD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test (214). *OECD* **214**, 1–7 (1998).
  49. Doolittle, G. M. *Scientific Queen-Rearing as Practically Applied*. (Thomas G. Newman & Son, 1889).
  50. Potrich, M. *et al.* Control agents on the quality of Africanized honeybee queens. *Semin Cienc Agrar* **41**, 1773–1762 (2020).
  51. Tomé, H. V. V., Barbosa, W. F., Martins, G. F. & Guedes, R. N. C. Spinosad in the native stingless bee *Melipona quadrifasciata*: Regrettable non-target toxicity of a bioinsecticide. *Chemosphere* **124**, 103–109 (2015).
  52. Grella, T. C., Soares-Lima, H. M., Malaspina, O. & Cornélio Ferreira Nocelli, R. Semi-quantitative analysis of morphological changes in bee tissues: A toxicological approach. *Chemosphere* **236**, 124255 (2019).
  53. Iturbe-Requena, S. L. *et al.* Oogenesis and embryogenesis inhibition induced by two new ethyl-carbamates in the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick Borne Dis* **11**, 101326 (2020).
  54. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. & Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* **7**, (1961).
  55. Wickham, H. *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. (Springer International Publishing, New York, 2016).
  56. Oliveira, F. G. M. Isolamento, identificação molecular e atividade enzimática de microrganismos associados ao intestino de abelhas sem ferrão *Tetragonisca Angustula Latreille*, 1811. (Universidade Estadual de Maringá (UEM), 2022).
  57. Specian, V. *et al.* Molecular phylogeny and biotechnological potential of bacterial endophytes associated with *Malpighia emarginata*. *Volume 15, Issue 2* **15**,
  58. Menna, P. *et al.* Molecular phylogeny based on the 16S rRNA gene of elite rhizobial strains used in Brazilian commercial inoculants. *Syst Appl Microbiol* **29**, 315–332 (2006).
  59. Wright, E. S., Yilmaz, L. S. & Noguera, D. R. DECIPHER, a search-based approach to chimera identification for 16S rRNA sequences. *Appl Environ Microbiol* **78**, 717–725 (2012).
  60. Saitou, N. & Nei, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* **4**, 406–425 (1987).
  61. Adolfo Lutz Institute. *Métodos Físico-Químicos Para Análise de Alimentos*. (Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2008).
  62. McGrath, T. F. *et al.* What are the scientific challenges in moving from targeted to non-targeted methods for food fraud testing and how can they be addressed? – Spectroscopy case study. *Trends Food Sci Technol* **76**, 38–55 (2018).
  63. Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A., Tan, S. W. & Chua, L. S. Classification of entomological origin of honey based on its physicochemical and antioxidant properties. *Int J Food Prop* **20**, S2723–S2738 (2017).
  64. Rodionova, O. Y. & Pomerantsev, A. L. Chemometric tools for food fraud detection: The role of target class in non-targeted analysis. *Food Chem* **317**, 126448 (2020).
  65. Raypah, M. E., Zhi, L. J., Loon, L. Z. & Omar, A. F. Near-infrared spectroscopy with chemometrics for identification and quantification of adulteration in high-quality stingless bee honey. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **224**, 104540 (2022).
  66. Wei, Q. *et al.* Authentication of chaste honey adulterated with high fructose corn syrup by HS-SPME-GC-MS coupled with chemometrics. *LWT* **176**, 114509 (2023).
  67. Martínez-Huitle, C. A. & Brillas, E. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by

- electrochemical methods: A general review. *Appl Catal B* **87**, 105–145 (2009).
68. Leonardi, S. G. *et al.* In-situ grown flower-like nanostructured CuO on screen printed carbon electrodes for non-enzymatic amperometric sensing of glucose. *Microchimica Acta* **184**, 2375–2385 (2017).
  69. Barragan, J. T. C., Kogikoski, S., Da Silva, E. T. S. G. & Kubota, L. T. Insight into the electro-oxidation mechanism of glucose and other carbohydrates by CuO-based electrodes. *Anal Chem* **90**, 3357–3365 (2018).
  70. Cruz, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Sci Agron* **35**, 271–276 (2013).
  71. Ozdal, T. *et al.* Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. *Food Research International* **122**, 528–536 (2019).
  72. Menezes, I. O. *et al.* Terpinolene inhibits acute responses triggered by different inflammatory agents in vivo models of mouse. *Food Biosci* **53**, 102621 (2023).
  73. Sickel, W. *et al.* Increased efficiency in identifying mixed pollen samples by meta-barcoding with a dual-indexing approach. *BMC Ecol* **15**, 20 (2015).
  74. Martins, A. C. *et al.* Contrasting patterns of foraging behavior in neotropical stingless bees using pollen and honey metabarcoding. *Sci Rep* **13**, 14474 (2023).
  75. Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J. & Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* **45**, 493–496 (1966).
  76. CLSI & M7-A6. *Metodologia Dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos Por Diluição Para Bactéria de Crescimento Aeróbico : Norma Aprovada - Sexta Edição*. vol. 23 (2003).
  77. Raulino-Domanski, F. *et al.* Optimized Histological Preparation of Ovary for Ovariole Counting in Africanized Honey Bee Queens (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Science* **19**, 1–4 (2019).
  78. Martin, A. C. & Harvey, W. J. The Global Pollen Project: a new tool for pollen identification and the dissemination of physical reference collections. *Methods Ecol Evol* **8**, 892–897 (2017).

## 9 RECURSOS ATRIBUÍDOS A UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA (UEL)

### 9.1 Despesas - UEL

ITEM	Item de despesa	Duração	Quant. bolsistas	De	Valor unit. (R\$)	Valor Total (R\$)
<b>BOLSAS (tipo de bolsa)</b>						
1	Pós-doutorado (PDS)	12	3		R\$ 5.500,00	R\$ 198.000,00
2	Iniciação Científica (PIBIC)	12	3		R\$ 700,00	R\$ 25.200,00
	<b>Total Bolsas</b>					<b>R\$ 223.200,00</b>

<b>CUSTEIO</b>						
1	Consumo (Reagentes, vidrarias, açúcar, pólen, inseticidas, corantes, insumos, reagentes para biologia molecular, reagentes para expressão gênica, meio de cultura, reagentes para histologia, reagentes e materiais para MEV, recipientes plásticos, tecidos para gaiolas, gases, embalagens, gaiolas, prendedores, ferramentas, material de escritório, etc.)				R\$ 8.000,00	
2	Diárias I (Demais municípios)		40		R\$ 278,90	R\$ 11.156,00
3	Serviços de terceiros (Sequenciamento de amostras microbiológicas, Manutenção de equipamentos, confecção de materiais para amostragem de abelhas, impressões e serviços gráficos, análises moleculares, análises bioquímicas, etc.)					23.000,00
	Passagens – variáveis (coletas de abelhas, reuniões, eventos, etc.)		15		1.000,00	15.000,00
	<b>Total Custeio</b>					<b>R\$ 57.156,00</b>
<b>CAPITAL</b>						
ITEM	DESCRIÇÃO	QUANT.	VALOR UNIT.	VALOR TOTAL		
1	Notebook	2	R\$ 7.000,00	R\$ 14.000,00		
	<b>Total Capital</b>			<b>R\$ 14.000,00</b>		
	<b>VALOR UEL:</b>					<b>R\$ 294.356,00</b>

	<b>Valor da proposta UEL</b>	<b>R\$ 294.356,00</b>
	<b>Serviço de apoio financeiro e operacional (5%)</b>	<b>R\$ 14.717,80</b>
	<b>VALOR TOTAL DA UEL:</b>	<b>R\$ 309.073,80</b>



Londrina, 11 de novembro de 2024.



Documento assinado digitalmente  
**CARLOS EDUARDO CALDARELLI**  
Data: 11/11/2024 10:18:17-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

*Prof. Carlos Eduardo Caldarelli*  
*Coordenador local - UEL*



Documento assinado digitalmente  
**SILVIA MARCIA FERREIRA MELETTI**  
Data: 11/11/2024 10:04:13-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

*Profa. Silvia Márcia Ferreira Meletti*  
*Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação*  
*PROPPG-UEL*