

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO BACHARELADO EM ZOOTECNIA

DIELI SIMIONATTO

**AÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE SOBRE *Apis mellifera* L.
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2013

DIELI SIMIONATTO

**AÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE SOBRE *Apis mellifera* L.
(HYMENOPTERA: APIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação,
apresentado ao curso de Bacharelado em Zootecnia,
da Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial para
obtenção do Título de ZOOTECNISTA.

Orientador: Prof^a Dr^a. Michele Potrich

DOIS VIZINHOS
2013



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Gerência de Ensino e Pesquisa
Curso de Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

TCC

AÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE SOBRE

***Apis mellifera* L. (HYMENOPTERA: APIDAE)**

Autor: Dieli Simionatto

Orientador: Prof^a. Dr^a. Michele Potrich

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA 13 de setembro de 2013.

Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da
Silva

Prof^a. Dr^a. Fabiana Martins Costa Maia

Prof^a. Dr^a. Michele Potrich
(Orientadora)

De tudo ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando.
A certeza de que precisamos continuar.
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.
Portanto devemos:
Da queda, um passo de dança.
Do medo, uma escada.
Do sonho, uma ponte.
Da procura, um encontro.

Fernando Sabino

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Deus pela vida presente em todos os momentos proporcionando-me segurança e pelas oportunidades oferecidas.

Na vida nada conquistamos sozinhos. Sempre precisamos de outras pessoas para alcançar os nossos objetivos. Muitas vezes um simples gesto pode mudar a nossa vida e contribuir para o nosso sucesso.

A meus pais, Janete Maria Stasiak Simonatto e Hilario Simionatto, por serem meus exemplos de vida, alicerces e incentivadores para prosseguir na vida. Ao meu irmão Bruno Simionatto pela parceria e ajuda prestada nos finais de semana no laboratório.

Ao meu companheiro e namorado Adilson Dallaio pela amizade, ajuda sempre presente, apoio, compreensão, e torcida para que eu pudesse chegar a este momento. Muito obrigado!

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Campus Dois vizinhos), ao Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV) e a UNEPE (Unidade de Ensino e Pesquisa) de Apicultura pela oportunidade de realização deste curso e pela realização dos meus experimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Araucária pela concessão de bolsas de estudo.

Aos professores de graduação, pelos ensinamentos, estímulo e amizade.

Ao professor Alfredo de Gouvêa, pela orientação de pesquisa, pela sua amizade e ensinamento.

A minha orientadora Michele Potrich e meus co-orientadores Everton R.L. da Silva, Fabiana M.C. Maia por serem esses grandes Doutores, pela orientação, paciência, confiança, pela imensa carga de conhecimentos transferidos para a minha formação profissional, mais que professores grandes amigos, por acreditar na minha capacidade para executar esse trabalho, e que sem vocês a realização deste não seria possível. A dívida que tenho com a professora Michele, nesta vida não terá condições de pagar, assim, rogo a Deus, que em sua infinita bondade, o faça por mim.

Agradeço aos amigos, que estiveram presentes em todos os momentos de minha vida, sempre pacientes e atenciosos.

Aos amigos, que colaboraram durante o período de instalação até a conclusão do trabalho, pela ajuda cedida a campo e laboratório: Daiane Luckmann, Carla S. Pegorini, Aline Mara dos S. Telles, Sidinei Dallacort, pelas inúmeras horas no laboratório com a montagem e as análises dos experimentos e pelo companheirismo incondicional.

Ao grupo GpmApis, pois sem vocês os experimentos não teriam sido realizados. Muito obrigada a todos vocês.

Aos professores Fernanda Ferrari e Fernando de Souza pela ajuda e disposição em orientar em programas experimentais e auxílio nas análises experimental.

Aos colegas de curso, pelo companheirismo, amizade, entretenimento e divergência de ideias e pelo agradável convívio durante as disciplinas cursadas.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Muito obrigada a todos!!!

RESUMO

SIMIONATTO, Dieli. Ação de agentes de controle sobre *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), 2013, 37f. Trabalho (Conclusão de Curso) – Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013.

A abelha *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) executa várias atividades, como a polinização, beneficiando a agricultura e garantindo a produção de frutos e grãos, além da produção de mel, geleia real, cera, própolis, pólen e apitoxina. A polinização efetuada por *A. mellifera* atinge várias culturas, tais como flores, frutíferas, áreas de milho e soja, entre outras. A aplicação de entomopatógenos e produtos fitossanitários naturais para o controle de insetos-praga destas culturas é prática comum em sistemas alternativos de produção. No entanto, ainda existem poucas informações na literatura sobre a ação destes agentes de controle sobre abelhas. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de agentes de controle sobre *A. mellifera*. Para isto, os produtos fitossanitários naturais Natualho[®], Natuneem[®], Rotenat[®], Pironat[®], Calda Bordalesa e o entomopatógeno *Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki* (Berliner) (Btk) foram avaliados sobre *A. mellifera* em dois testes. No primeiro teste os produtos foram pulverizados, na concentração recomendada pelo fabricante, sobre as abelhas. No segundo teste, os produtos foram acrescidos à pasta Cândi e esta foi fornecida as abelhas. Em ambos os testes foram utilizadas 30 operárias por tratamento (repetição), individualizadas em tubos de vidro e, para as respectivas testemunhas utilizou-se a pulverização de água destilada esterilizada e a adição de pasta Cândi pura ou acrescida de água destilada esterilizada. Os experimentos foram mantidos em câmara climatizada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$ fotofase de 12 h) 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 horas. As operárias mortas pela ingestão de pasta Cândi contaminada foram separadas e selecionadas aleatoriamente para a retirada do intestino (mesêntero) e posterior análise histológica. O mesêntero, depois de retirado, foi fixado em *Bouin* e preparado para histologia, conforme procedimentos padrões. Os mesmos foram avaliados quanti e qualitativamente. Verificou-se que os agentes de controle quando pulverizados e/ou fornecidos através de alimento não interferiram na longevidade das operárias de *A. mellifera*. A histologia do mesêntero de *A. mellifera* não apresentou alterações morfométricas, não interferindo no tamanho das vilosidades das células. Os produtos fitossanitários e o entomopatógeno não interferiram na longevidade das operárias de *A. mellifera*.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*. Produtos Fitossanitários Naturais. Abelha africanizada. Seletividade.

ABSTRACT

SIMIONATTO, Dieli. Action of control agents on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), 2013, 37f. Trabalho (Conclusão de Curso) – Programa de Graduação em Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013.

The bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) perform various activities such as pollination, benefiting agriculture and ensuring the production of fruits and grains, besides the production of honey, royal jelly, beeswax, propolis, pollen and bee venom. The pollination performed by *A. mellifera* reaches multiple cultures, such as flowers, fruit, fields of corn and soybeans, among others. The application of entomopathogens and natural phytochemical products to control insect pests of these crops is common practice in alternative production systems. However, there is few information in the literature about the action of these control agents over bees. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of control agents on *A. mellifera*. For this, the natural phytochemical products Natualho[®], Natuneem[®], Rotenat[®], Pironat[®], Bordeaux mixture and entomopathogen *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (Berliner) (Btk) were evaluated on *A. mellifera* in two tests. In the first test the products were sprayed at the concentration recommended by the manufacturer on bees. In the second test, the products were added to the Cândi paste this was provided to bees. In both tests 30 workers bees were used per treatment (repetition) in individual glass tubes, for the respective controls we used the spray of sterile distilled water and addition of pure the Cândi paste plus sterile distilled water. The experiments were kept in a climatic chamber (30 ± 2 ° C, RH $70 \pm 10\%$ photoperiod of 12 h) and mortality of workers bee assessed by one, two, three, four, five, six, nine, 12, 15, 18, 21 , 24, 30, 36, 42, 48, 60, 72 and 96 hours. The dead workers bee were divided randomly selected for removal from the intestine (midgut), and subsequent histological analysis. The midgut, after removal, was fixed in *Bouin* and prepared for histology as standard procedures. They were evaluated quantitative and qualitative. It was found that the control agents when sprayed and / or provided through food did not affect the longevity of workers of *A. mellifera*. The histology of the midgut of *A. mellifera* showed no morphometric changes, no changes in the size of the cells of the villi. The natural phytosanitary products and entomopathogen did not affect the longevity of workers of *A. mellifera*.

Key-words: *Bacillus thuringiensis*. Natural phytosanitary products. Africanized bee. Selectivity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 OBJETIVO GERAL/ESPECÍFICO	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 SISTEMA ALTERNATIVO DE PRODUÇÃO.....	9
2.2 CONTROLE BIOLÓGICO	9
2.2.1 <i>Bacillus thuringiensis</i>	10
2.3 CONTROLE ALTERNATIVO.....	12
2.3.1 Natuneem®	12
2.3.2 Natualho®	13
2.3.3 Pironat®	13
2.3.4 Rotenat®	14
2.3.5 Calda Bordalesa.....	14
2.4 ORGANISMOS NÃO ALVO	14
2.4.1 Abelhas <i>Apis mellifera</i> L. (Hymenoptera: Apidae).....	16
2.5 AÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE SOBRE <i>Apis mellifera</i>	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 OBTENÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE E DE <i>Apis mellifera</i>	19
3.2 PULVERIZAÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE SOBRE <i>Apis mellifera</i>	20
3.3 ADIÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE EM PASTA CÂNDI	21
3.4 HISTOLOGIA DE <i>Apis mellifera</i> ALIMENTADA COM OS AGENTES DE CONTROLE.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 PULVERIZAÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE SOBRE <i>Apis mellifera</i>	24
4.2 ADIÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE EM PASTA CÂNDI	26
4.3 HISTOLOGIA DE <i>Apis mellifera</i> ALIMENTADA COM OS AGENTES DE CONTROLE.....	27
5 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial, a demanda de alimentos aumentou significativamente e, conseqüentemente, o uso de produtos fitossanitários sintéticos também aumentou, a fim de controlar as pragas e aumentar a produtividade agrícola. Com a utilização destes inseticidas em larga escala muitos problemas ambientais foram agravados, sendo estes, toxicidade ao homem (aplicador), mortalidade de inimigos naturais e contaminação de produtos consumidos *in natura*, além dos rios, nascentes e solo. Com isso, surgiu o MIP (Manejo Integrado de Pragas), que prioriza o conhecimento do inseto-praga, sua biologia, seus inimigos naturais, além da utilização de diversos métodos de controle, tais como: controle biológico, controle cultural, controle físico, controle mecânico, controle alternativo, utilização de plantas transgênicas, controle químico, controle por comportamento, desde que seletivos aos inimigos naturais e aos insetos benéficos (GALLO et al., 2002; VALICENTE, 2009).

Entre estes métodos de controle, o controle biológico está entre os mais ambicionados nos sistemas alternativos de produção, com atenção especial à utilização de entomopatógenos, como as bactérias, vírus, fungos, protozoários e nematoides (VALICENTE, 2009). A utilização dos entomopatógenos apresenta vários benefícios, tais como, menor contaminação ambiental e ao homem, especificidade, poucos registros de resistência em insetos alvos, a ocorrência de multiplicação do próprio entomopatógeno no ambiente, além da seletividade a inimigos naturais (ALVES, 1998).

Os extratos vegetais e os inseticidas fitossanitários naturais também são utilizados com frequência nos sistemas alternativos de produção. No entanto, muitas vezes os insetos não alvo também são atingidos, causando repelência, esterilidade, toxidade, reduzindo a alimentação o desenvolvimento e modificando o comportamento (ARNASON et al., 1990; BELL et al., 1990).

Apesar de diversos autores discorrerem sobre a baixa toxicidade dos produtos biológicos e alternativos, ainda são poucas as pesquisas desenvolvidas nesta área, em especial quanto à utilização e sua ação sobre insetos benéficos, como a abelha *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). A preocupação com a abelha *A. mellifera* ocorre pelo fato deste inseto trazer benefícios diretos e indiretos ao homem, sendo os benefícios diretos a produção de mel, própolis, pólen, cera e apitoxina, que geram lucros ao apicultor, já a indireta através

da polinização, sendo essencial na reprodução e na perpetuação de uma diversidade de espécies vegetais polinizadas (TRINDADE et al., 2004).

Verificou-se que os produtos fitossanitários naturais Natuneem[®] (500 mL/100L) e Pironat[®] (250mL/100L), quando aplicados por via de contato (nas concentrações 0,25×, 0,5×, 1× e 2× a dose recomendada) sobre operárias de *A. mellifera* não foram tóxicos, os quais não alteraram a longevidade das mesmas (EFROM, 2009).

Além dos produtos fitossanitários naturais, produtos utilizados no controle biológico, como a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, também geram preocupação e foram testadas sobre outros insetos não alvos da ordem Hymenoptera, como *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae), que não teve o parasitismo afetado quando alimentado com gotículas de mel inoculadas com diferentes isolados desta bactéria (PRATISSOLI, 2006).

Atualmente existem vários trabalhos e pesquisas que avaliam o efeito dos agentes de controle sobre as pragas, deixando de avaliar, ou pouco enfatizando, seus efeitos sobre os insetos benéficos, em especial os polinizadores, através de análises histológicas, pois muitas vezes os agentes de controle não modificam seu comportamento, mas em contato com o sistema digestório podem causar danos diminuindo seu desempenho e mesmo com a produção e com a reprodução.

1.1 OBJETIVO GERAL/ESPECÍFICO

Avaliar a ação de agentes de controle sobre a abelha *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae).

Avaliar a ação da pulverização e da ingestão dos agentes de controle, produtos fitossanitários naturais e *Bacillus thuringiensis* sobre a sobrevivência de *A. melífera*.

Analisar os efeitos destes agentes de controle no sistema digestório de *A. melífera* através da análise histológica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SISTEMA ALTERNATIVO DE PRODUÇÃO

O crescente aumento da área de produção agrícola no Brasil fez com que a demanda de produtos fitossanitários sintéticos aumentasse, a fim de controlar doenças e pragas. No entanto, juntamente com este aumento tem-se a preocupação com o ambiente, pois vários problemas começaram a surgir, tais como contaminação de alimento, água, solo, resistência de pragas e eliminação dos organismos benéficos.

Nos sistemas alternativos de produção também ocorre a presença de pragas e doenças em culturas, assim como nos sistemas convencionais, com isso, necessita-se utilizar conjuntamente com produtos alternativos para se substituir os produtos fitossanitários sintéticos, sendo necessário que estes produtos apresentem um baixo custo, não sejam prejudiciais a saúde humana e que apresentem seletividade aos insetos benéficos (PENTEADO, 2007).

Atualmente, é crescente a busca de alimentos saudáveis livres de contaminação onde os sistemas alternativos de produção ganharam mais espaço no mercado, destacando-se pelos alimentos chamados de orgânicos. Este tipo de sistema de produção utiliza uma variada quantidade de produtos biológicos e alternativos para fazer o controle de doenças e pragas (LUCKMANN, 2011). Neste cenário, ressalta-se a utilização do controle biológico, representado pelos entomopatógenos, parasitoides e predadores, e a utilização do controle com métodos alternativos, representado pelos produtos fitossanitários naturais, caldas fertiprotetoras, óleos essenciais e extratos vegetais (PENTEADO, 2007).

A proteção e a preservação ambiental são os objetivos dos sistemas alternativos de produção, nestes sistemas proporcionam alimentos de melhor qualidade com relação social entre as pessoas envolvidas no processo de produção (PRIMAVESI, 1994; GLEISSMAN, 2005).

2.2 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico é um fenômeno natural, tem a finalidade de utilizar inimigos naturais para controlar o número de animais e plantas. Dentre os diversos seres vivos, os insetos apresentam vários inimigos naturais, tais como os insetos, bactérias, vírus, fungos, nematoides, entre outros (PARRA et al., 2002).

O estudo do controle biológico teve início no século III a.C., através dos chineses, que foram os primeiros a utilizar predadores para o controle de lepidópteros desfolhadores e coleobrocas de citros, utilizando a formiga *Oecophylla smaragdina* (Fabr.) (Hymenoptera, Formicidae) (CLAUSEN, 1956; VAN DEN BOSCH et al., 1982). Já no Brasil, o primeiro inseto que foi introduzido com a finalidade de controlar a cochonilha escama-branca (*Pseudaulacaspis pentagona*) (Targioni-Tozzetti) (Hemiptera: Diaspididae) foi o parasitoide *Prospaltella berlesei* (Howard) (Himenoptera: Aphelinidae), trazido dos Estados Unidos em 1921 (BRUMATTI; SOUZA, s.a). Os insetos mais utilizados para o controle biológico são os da ordem Hymenoptera e em menor quantidade os da ordem Diptera, Strepsiptera e Neuroptera (PARRA et al., 2002).

A busca por alimentos mais saudáveis fez com que o controle biológico tivesse uma maior importância em programas de manejo integrado de pragas (MIP), o que tem ressaltado essa prática em muitas propriedades e que em conjunto com outros métodos, como o de resistência de plantas a insetos, o físico, o cultural e os comportamentais (feromônios), objetiva manter o número de pragas abaixo nível de dano econômico (PARRA et al., 2002).

O controle biológico, em especial o controle microbiano, que utiliza os entomopatógenos, está sendo uma alternativa para reduzir a utilização dos produtos fitossanitários sintéticos, pois apresenta vantagens, como menor risco ambiental e humano, alta especificidade, menor presença de resistência nos insetos alvos e algumas vezes a multiplicação do entomopatógeno no ambiente, aumentando a sua persistência. No entanto, os entomopatógenos apresentam algumas desvantagens sendo elas, maior suscetibilidade aos fatores ambientais, baixa especificidade e necessidade de conhecimento sobre os métodos corretos de aplicação, pois os mesmos podem atingir os insetos benéficos, ocasionando, além de efeitos negativos no desenvolvimento e comportamento, a morte dos mesmos (ALVES, 1998).

2.2.1 *Bacillus thuringiensis*

A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* é distinguida como bastonete, sendo Gram-positiva, aeróbica ou facultativamente anaeróbica, esporulante e encontrada no solo (COSTA et al., 2010). Esta bactéria é uma espécie caracterizada por formar proteínas cristalinas extracelulares e intracelulares durante a esporulação (POLANCZYK; ALVES, 2003), estas produzem um cristal proteico intracelular, chamado Cry (YAMAMOTO; DEAN, 2000). Este entomopatógeno tem ação sobre as ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Diptera (PINTO; FIUZA, 2002), sendo considerado um entomopatógeno com alto potencial de disseminação, mas comumente não apresenta esporulação em insetos antes e após a sua morte. Por este motivo, dificilmente é encontrada acarretando epizootias naturais em insetos (POLANCZYK; ALVES, 2003).

Após a ingestão dos cristais proteicos as Cry pelo inseto alvo, estas proteínas encontram-se insolúveis no aparelho digestório do inseto, ao entrar em contato com o pH alcalino ocorre a solubilização, são liberadas no intestino protoxinas desativadas e através da ação proteolítica das enzimas digestivas ocorre quebras em peptídeos tóxicos. As toxinas ativas vão se ligar a receptores específicos presentes nas microvilosidades das células epiteliais do mesêntero, agindo sobre o balanço osmótico e no gradiente iônico, na membrana apical, formando os poros e aumentando a permeabilidade da membrana, causando a ruptura e extravasamento do conteúdo celular com a hemolinfa proporcionando um meio adequado para a germinação dos esporos ocorrendo a morte dos insetos por septicemia (KNOWLES; ELLAR, 1987; KNOWLES, 1994; ARONSON; SHAI, 2001).

Os produtos formulados a base de *B. thuringiensis* são utilizados em várias culturas, como tomate, algodão, citros, mandioca, soja, trigo, milho, entre outras para o controle de lagartas (GALLO et al., 2002).

O entomopatógeno *B. thuringiensis* representava 90% do mercado dos produtos fitossanitários naturais, sendo que seus isolados possuem ação patogênica para mais de 1000 espécies de insetos, sendo 572 espécies de lepidópteros, os quais são os mais suscetíveis (POLANCZYK; ALVES, 2003). No mercado mundial de pesticida a comercialização de produtos fitossanitários naturais, até 2006, correspondia a 5% (BRAR et al., 2006).

No Brasil, a formulação pó molhável de *B. thuringiensis* é utilizada nas áreas agrícolas, pois este tipo de formulação proporciona um maior potencial. No Paraná, este entomopatógeno é o mais utilizado na cultura de soja orgânica (HIRAKURI et al., 2011).

Apesar de *B. thuringiensis* apresentar seletividade e alta especificidade (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000), em algumas culturas, após a pulverização, os grânulos dos

produtos com *B. thuringiensis* são facilmente apreendidos pelas abelhas, quando estas coletam o pólen, levando esta bactéria para a colônia (JOHANSEN; MAYER, 2006).

2.3 CONTROLE ALTERNATIVO

A utilização de produtos conhecidos como naturais fitossanitários naturais é uma ferramenta para quem necessita fazer o controle de insetos pragas. Estes produtos são produzidos com plantas ou matérias que a própria propriedade pode proporcionar (EMBRAPA, 2013).

Os produtos naturais podem ser oriundos de extratos vegetais, e deles também extraído seus óleos. Estes produtos também podem ser vendidos em comércios especializados, como as caldas, que na maioria das vezes são produzidas pelo próprio produtor para os sistemas alternativos de produção. Por estes produtos apresentarem uma variedade de substâncias na sua composição, estes apresentam diversos princípios ativos, e com uma menor toxicidade aos seres humanos e aos animais, podendo ser facilmente degradados, além da quantidade de resíduos nos alimentos e no ambiente ser menor (LUCKMANN, 2011).

2.3.1 Natuneem[®]

O produto Natuneem[®], segundo os dados de sua composição, é proveniente de óleo de nim, extratos vegetais bioativados, óleo de mamona e veículo. O nim *Azadirachta indica* Juss. é uma árvore da família das Meliaceas, planta originária da Índia e Birmânia, sendo que todas as partes da planta possuem compostos ativos (BRECHELT, 2004). Esta planta tem suas partes utilizadas como inseticida, adubo e planta medicinal (MARTINEZ, 2002). O nim possui a azadiractina como seu principal composto ativo, um tetranortriterpenoide, isolado das sementes (REMBOLD, 1989), este produto apresenta elevada ação acaricida e inseticida, possuindo baixa toxicidade ao homem e seletividade aos inimigos naturais (MOURÃO et al., 2004).

O mercado possui várias formulações de produtos a base de nim, como pó seco, óleo, extrato aquoso e orgânico (acetônico, etanólico, metanólico, clorofórmico, hexânico) e pasta (SAXENA, 1989). Apresenta ação sobre mais de quatrocentas espécies de insetos e ácaros, através da diminuição da fecundidade, mortalidade, inviabilidade quando nas formas imatura e repelência (MARTINEZ, 2002), sendo considerado seletivo para os inimigos naturais (SCHMUTTERER, 1997).

2.3.2 Natualho[®]

Naturalho[®] é um produto obtido do extrato de alho (*Allium sativum* L.) adquirido através da extração a frio e solvente natural, sendo solúvel em água, apresenta-se com aspecto amarelado com pH entre 6 a 8. O alho pode ser utilizado, além da alimentação humana e medicinal, para fazer a proteção de vegetais, como inseticida, antibacteriano e fungicida (BRECHELT, 2004).

O extrato de alho apresenta muitos compostos organosulfurados com ação inseticida, como principal o dialil-disulfito (THOMAS; CALLAGHAN, 1999). Por apresentar repelência sobre as pragas, muitas vezes recomenda-se plantar com frutíferas (AMBIENTE BRASIL, 2009).

2.3.3 Pironat[®]

O produto Pironat[®] (extrato pirolenhoso) é um composto obtido por meio da condensação das fumaças geradas na produção do carvão vegetal. Por meio da pirólise da madeira possui um concentrado com mais de 100 substâncias químicas com participação ativa no crescimento e defesa das plantas e da microfauna a elas associada. A composição do produto Pironat[®] possui 10% de concentrado de moléculas originadas através da pirólise, sendo os principais o ácido acético, siringol, guaiacol, metilsiringol, metilguaiacol, cresol e fenol. O produto é recomendado como repelente de insetos e na prevenção de algumas doenças (VALEAGRO, 2013).

2.3.4 Rotenat[®]

Rotenat[®] é produzido a base de extrato de Timbó (*Derris* sp.) e ácidos graxos, composto por 5% de rotenona, sendo este o princípio ativo do produto (NATURAL RURAL, 2011). Este princípio ativo é um composto natural encontrado em algumas plantas da família Fabaceae, sendo localizadas na América do Sul e na Ásia (ISMAN, 2006), proporcionando características inseticidas e acaricidas contra alguns besouros, lagartas, pulgões, pulgas, ácaros, cochonilhas, cigarrinhas e moscas (XAVIER, 2009). A rotenona apresenta efeitos tóxicos nos músculos e nervos, fazendo com que os insetos não consigam se alimentar, ocorrendo à morte após algumas horas ou dias (KLAASSEN; WATKINS, 2003).

2.3.5 Calda Bordalesa

A calda bordalesa é uma suspensão coloidal, de cor azul-celeste, sendo um fungicida composto por sulfato de cobre, cal virgem e água (PAULUS, 2001). Esta calda possui ação de antibiose e nutricional para as plantas, faz o controle de fungos e tem substâncias que atuam como repelentes a insetos (PENTEADO, 1999; CLARO, 2001). No sistema alternativo de produção é um produto utilizado, além de fazer a proteção para as plantas contra alguns insetos-pragas e patógenos, a planta consegue absorver nutrientes essenciais (Cu, Ca e S), favorecendo o desenvolvimento e a qualidade dos frutos (FREITAS, 2003).

2.4 ORGANISMOS NÃO ALVO

Os organismos não-alvos são os insetos benéficos presentes no meio ambiente, entre os insetos, destacam-se como organismos não alvos os parasitoides, os predadores e os insetos considerados úteis, como os polinizadores, produtores de seda e mel. Neste sentido as abelhas, em especial *Apis mellifera*, destaca-se como organismo não alvo, em especial pelo seu

potencial econômico, pois além da polinização natural, ainda é fonte de renda em pequenas propriedades, como produtora de mel e própolis.

Nos cultivos agrícolas, as abelhas geram um grande benefício com a polinização, mas Ainda existem poucos trabalhos verificando o valor econômico do serviço prestado por estes polinizadores para as culturas agrícolas. De acordo com as pesquisas dos Estados Unidos onde são pioneiros nestes estudos Morse, Calderone (2000) a agricultura dos Estados Unidos foi beneficiada somente pelas *A. melliferas* L. em 14,6 bilhões de dólares, sendo que em 1989 foi de 9,3 bilhões (ROBINSON, NOWOGRODZI; MORSE 1989), ou seja um aumento de 36%.

As culturas com maior dependência pela polinização são a maçã (*Malus domestica*) na região Sul e o melão (*Cucumis melo*) na região Nordeste. Nas áreas com poucos manejos na produção de melão no Nordeste do Brasil em 2004 foram introduzidas abelhas africanizadas para os serviços de polinização através do serviço de aluguel de 10.000 colônias tendo um custo de R\$30,00/colônia, totalizando R\$ 300.000,00, já em Santa Catarina na cultura da maçã foram alugadas 45.000 colônias com um custo de R\$ 40,00/colônia, totalizando 1.800.000,00 em 2004 (FREITAS; IMPERATRIZ-FONSECA, 2005).

No sistema agrícola, a diversidade de culturas é grande e estas culturas abrigam insetos-pragas e também os insetos considerados não alvos. No entanto, a aplicação de produtos fitossanitários naturais e/ou sintéticos podem afetar estes organismos (SCHULER et al., 1999).

Neste sentido, Costa (2007), em dois anos agrícolas, fez a avaliação do entomopatógeno *B. thuringiensis* e de produtos fitossanitários sintéticos sobre os organismos não alvos presentes nas culturas de arroz antes e após a aplicação do produto biológico e sintético. Foram avaliados seis tratamentos (quatro produtos fitossanitários sintéticos, um produto fitossanitário natural à base de *B. thuringiensis aizawai* e testemunha sem inseticidas). Nos dois anos do estudo não foi observado efeito significativo de *B. thuringiensis* sobre o número de inimigos naturais coletados após a aplicação do produto fitossanitário natural.

O manejo integrado de pragas em conjunto com a diminuição dos produtos fitossanitários sintéticos fez com que novos métodos de controle fossem utilizados e com isso, novos produtos foram formulados. Assim, tornou-se necessário que novas avaliações e pesquisas fossem realizadas testando a seletividade e a compatibilidade destes produtos fitossanitários naturais com organismos considerados não alvos (SMANIOTTO, 2011).

2.4.1 Abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)

Na ordem Hymenoptera são conhecidas mais de vinte mil espécies diferentes de insetos, mas as abelhas estão entre as mais estudadas e conhecidas, em especial as do gênero *Apis*, espécie *Apis mellifera*. Este fato ocorre por estas abelhas executarem numerosas e importantes atividades que beneficiam a humanidade, iniciando pela polinização, beneficiando a agricultura, garantindo maiores e melhores produções de frutos e grãos, além da produção de mel, geleia real, cera, própolis, pólen e apitoxina (RAMOS; CARVALHO, 2007).

Em 1939 abelhas alemãs *Apis mellifera mellifera* (Hymenoptera: Apidae) foram inseridas no Brasil, através da imigração dos europeus, a partir do século XIX, estes trouxeram junto com suas mudanças as abelhas da espécie europeia (CAMARGO, 1972), tais como *Apis mellifera carnica* e *Apis mellifera ligustica* (NOGUEIRA-NETO, 1972).

Com o surgimento de doenças e pragas em apiários, a apicultura brasileira, em 1950, perdeu o estimado a 80% das colônias. Em 1956, o pesquisador Dr. Warwick Estevan Kerr foi até a África para selecionar colônias de abelhas africanas (*A. mellifera scutellata*) com a finalidade de melhorar a apicultura brasileira com a introdução de abelhas mais resistentes as doenças. Porém, das colônias que o pesquisador trouxe, 26 delas enxamearam e se cruzaram com subespécies existentes no país, originando as abelhas africanizadas (PEREIRA et al., 2003). A abelha africanizada é identificada por apresentar características marcantes como alta produção de mel, rusticidade, alta capacidade de identificação de fonte de alimento, rápido desenvolvimento e adaptação e polinização eficiente (GONÇALVES, 2006).

A africanização trouxe muitas características boas, como o aumento da produção de mel, mas também o comportamento defensivo e isso fez com que muitos apicultores abandonassem esta atividade. Este fato ocorreu pela falta de conhecimento destes apicultores no manejo destas abelhas (STORT; GONÇALVES, 1994). Através das mudanças ocorridas com a apicultura, comparado com outras atividades do agronegócio que já estavam se desenvolvendo, a mesma teve maior desenvolvimento em menor tempo no Brasil, sendo esta atividade reconhecida como produtora e exportadora de mel orgânico, geleia real e própolis (QUEIROZ et al., 2001; GONÇALVES, 2004).

O mel tem se destacado na renda de produtores orgânicos ou de pequenos produtores, este fato pôde ser verificado com base nos dados de 2012, que indicam que a

exportação de mel no Brasil foi de 16.707.404 toneladas. Já em 2013, o Brasil exportou no primeiro semestre uma receita de US\$ 27.028.082 milhões, com 8.374.771 toneladas. Em 2012, o Paraná obteve uma receita de US\$ 9.713.143 mil com a exportação de 3.024.883 toneladas (ABEMEL, 2013).

Durante a atividade de forrageamento as operárias vão fazer coleta de pólen, néctar e água, percorrendo vários locais do ambiente, como solo, vegetação, água e ar. Durante o período de realização dos seus serviços, muitas partículas como fungos e bactérias, podem se aderir ao corpo e também podem ser ingeridas, o que possibilita a contaminação delas e de outras abelhas na colônia, levando à morte das mesmas (RIBEIRO et al., 2010).

As abelhas são insetos que tem característica de viver em sociedade, o que leva à facilidade de infecção, disseminação e sobrevivência de micro-organismos, pois o interior das colmeias possui umidade e temperatura propícia para o desenvolvimento destes agentes (FRIES; CAMAZINE, 2001). As altas densidades populacionais dentro de uma colônia e as suas interações, tais como alimentação de larvas, limpeza e comunicação, são fatores que proporcionam a sobrevivência e a disseminação dos mesmos (FRIES; CAMAZINE, 2001; INVERNIZZI et al., 2009).

O primeiro desaparecimento das abelhas foi no continente europeu, conhecido como “*Síndrome de Despoblamiento de las Colmenas*” (HIGES et al., 2005), no qual as causas ainda não foram esclarecidas, mas tem indícios de estar associado a possíveis ações de patógenos (HIGES et al., 2009). Muitos organismos infectam as abelhas melíferas no mundo inteiro como os ácaros, fungos, bactérias e vírus (BAILEY; BALL 1991; ELLIS; MUNN 2005).

Apesar de existirem alguns trabalhos que indicam efeitos nocivos de produtos fitossanitários naturais em organismos não alvo, raramente estes efeitos são detectados no ambiente/campo, provavelmente porque a quantidade de produto utilizado em laboratório é superior àquele utilizado e recomendado em campo (LUCHO et al., 2004).

2.5 AÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE SOBRE *Apis mellifera*

Com o aumento da utilização de produtos fitossanitários sintéticos a preocupação com a contaminação do meio ambiente aumentou, sendo necessário pesquisas testando a

seletividade de entomopatógenos e produtos fitossanitários naturais sobre *A. mellifera* para verificar se há ou não interferência destes agentes de controle sobre as abelhas.

A ingestão de dieta (pasta Cândi) contaminada com *B. thuringiensis* subespécie *kurstaki* (Btk) (Dipel[®] PM), nas concentrações 0,25; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 10,0;20,0g/60g de pasta Cândi, provocou mortalidade em 73; 75; 81; 97; 98; 100; e 100% (respectivamente), diferindo significativamente da testemunha (BRIGHENTI et al., 2007).

Brighenti et al. (2007) registraram efeito de toxicidade da bactéria *B. thuringiensis* (Dipel[®]) sobre as operárias de *A. mellifera*, o mesmo aplicou sobre as abelhas a uma concentração 0,25g/100mL e verificou a mortalidade de 62,2%.

Em avaliação da seletividade do produto Natuneem[®] sobre organismos não alvos, Xavier (2009) verificou que o mesmo foi tóxico a abelhas operárias de *A. mellifera*, causando mortalidade aproximada de 85%, após seis dias de exposição, em testes de contato (XAVIER, 2009). Larvas de *A. mellifera* não foram afetadas 14 dias após a ingestão do produto fitossanitário natural Natualho[®], sendo que a mortalidade não atingiu 5% (XAVIER, 2009). Rotenat CE[®], em testes de segurança, aplicado via tópica sobre operárias de *A. mellifera*, reduziu a sobrevivência destas em 80,2% (EFROM, 2009).

Pironat[®] já foi testado quanto a sua segurança e seletividade sobre outros insetos da ordem Hymenoptera. Em testes sobre *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae), Smaniotto (2011) verificou que Pironat, quando pulverizado na concentração recomendada sobre os ovos de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), não repeliu o parasitismo deste parasitoide.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE) Apicultura e no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

3.1 OBTENÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE E DE *Apis mellifera*

O agente de controle biológico utilizado foi a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis*, produto comercial Thuricide[®], utilizada na concentração recomendada pelo fabricante (0,3g/100mL). Os produtos fitossanitários naturais comerciais foram obtidos em centros especializados em produtos para sistema alternativos de produção, utilizados nas concentrações recomendadas pelos fabricantes (Tabela 1).

Tabela 1 - Nome comercial, composição, recomendação de uso e concentração recomendada dos produtos fitossanitários naturais utilizados nos experimentos. UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos, PR, 2013.

Nome Comercial	Composição	Recomendação de uso	Concentração Recomendada	Valor de mercado*
Naturalho [®]	Extrato de alho	INS	3 mL / 1 L	**
Natuneem [®]	Óleo de nim, revigorante orgânico, óleo de mamona, extratos vegetais bioativos e veículo	INS	0,5 mL / 1 L	40,00
Rotenat [®]	Extrato de <i>Derris</i> sp e ácidos graxos, princípio ativo rotenona	INS	6 mL / 1 L	18,90
Pironat [®]	Composto de diferentes espécies de madeira	INS	1 mL / 1 L	9,60
Calda Bordalesa	Sulfato de Cobre; Hidróxido de Cálcio	FUN	10g CuSO ₄ + 10g de Ca(OH) ₂ / 1L	30,00
Thuricide	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berlinger	INS	0,3/100mL	90,00

INS= inseticida; FUN= fungicida

*Valor tabulado em setembro/2013

** Não está mais disponível no mercado

As operárias de *A. mellifera* africanizadas foram obtidas por meio de oitos favos tipo Langstroth de cria operculada provenientes do Apiário Experimental da UNEPE Apicultura da UTFPR-DV. A seleção dos mesmos foi baseada na qualidade e quantidade de oviposição da rainha. Segundo Nogueira-Couto e Couto (2006) a operária emerge aos 21 dias. Sendo assim, um dia antes da emergência os favos foram retirados do Apiário acondicionados em sacos de papel Kraft (60 cm x 70 cm com gramatura 50), lacrados e perfurados, e transportados ao Laboratório de Controle Biológico. Estes quadros com a postura foram acondicionados em câmara climatizada tipo B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$), para emergência uniforme das operárias, simulando o ambiente da colônia de origem.

3.2 PULVERIZAÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE SOBRE *Apis mellifera*

Após 24 horas foi realizada a coleta 450 abelhas (Figura 1A) de mesma idade e genealogia, previamente anestesiadas com CO_2 , por 120 segundos (BAPTISTA et al., 2009). Na sequência estas operárias foram transferidas para placas de Petri, em grupos de 10 indivíduos. Cada placa, contendo 10 operárias foi pulverizada com 1 mL do tratamento, utilizando-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma[®] acoplado a uma bomba Fanem[®] de pressão constante 1,2 kgf/cm (Figura 1B). Cada tratamento constou de 30 operárias pulverizadas, as quais foram transferidas, individualmente, para tubos de vidro esterilizados (10 cm x 2,5 cm), sendo cada tubo considerado uma repetição, totalizando 30 repetições por tratamento (Figura 1C). A testemunha constou da pulverização de água destilada esterilizada.

Os tubos contendo as operárias foram vedados com tecido *voil*, e sobre este foi fornecido alimento constituído de pasta Cândi (açúcar de confeitaria e mel) e algodão embebido em água destilada (Figura 1D). Estes foram acondicionados em câmara climatizada tipo B.O.D. ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$).

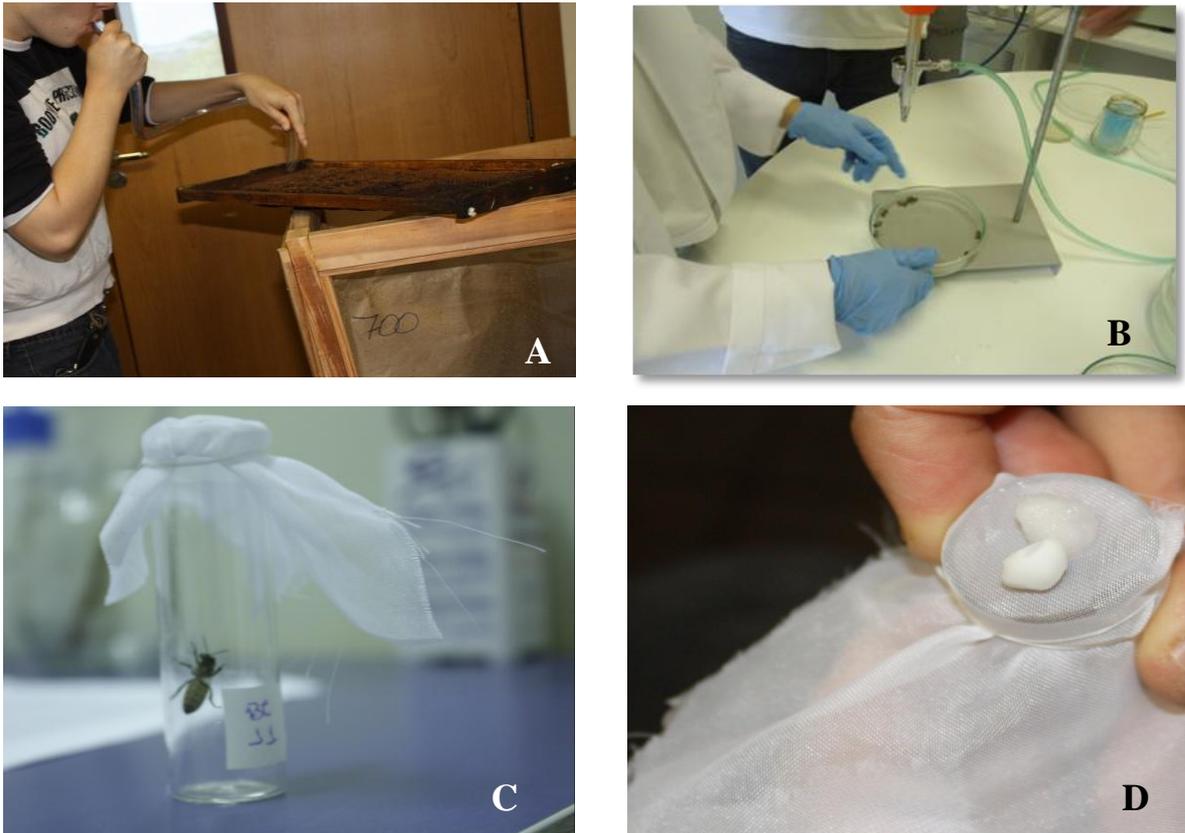


Figura 1. A) Coleta de *Apis mellifera* de quadros de postura oriundos da UNEPE Apicultura; B) Pulverização dos produtos fitossanitários naturais sobre um grupo de dez abelhas; C) Operárias de *A. mellifera* acondicionadas individualmente em tubo de vidro, vedado com tecido tipo *voil*; D) Alimentação de *A. mellifera* composta por pasta Cândi e algodão umedecido com água destilada.

Foi avaliada a mortalidade das operárias a uma; duas; três; quatro; cinco; seis; nove; 12; 15; 18; 21; 24; 30; 36; 42; 48; 60; 72 e 96 horas conforme metodologia descrita por (BAPTISTA et al., 2009). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Duncan, através do programa Assistat (SILVA, 2012).

3.3 ADIÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE EM PASTA CÂNDI

Operárias de *A. mellifera*, recém emergidas, foram transferidas para tubos de vidro esterilizados (repetições), conforme descrito no item 3.2. Os tubos foram vedados com tecido *voil*, e sobre este foi fornecido alimento composto de pasta Cândi acrescida de um agente de controle (tratamento) e algodão embebido em água destilada esterilizada. Foram preparadas

duas testemunhas, sendo a primeira composta por pasta Cândi acrescida de água destilada esterilizada e a segunda composta de pasta Cândi pura. As condições experimentais, os parâmetros avaliados e a análise dos dados foram os mesmos descritos no item 3.2.

3.4 HISTOLOGIA DE *Apis mellifera* ALIMENTADA COM OS AGENTES DE CONTROLE

Para a realização da histologia foram utilizadas as operárias dos bioensaios anteriores, sendo retirado o trato digestório das mesmas. Estes foram fixados em *Bouin* (formaldeído 5% 5 mL + ácido acético glacial 5% 25 mL + solução saturada de ácido pícrico 5% aquoso 75 mL) por 4 h, lavadas em álcool 70% (3x 15 minutos) e armazenadas em álcool 70% até o processamento.

As amostras armazenadas em álcool 70% foram desidratadas por imersão em álcool de diferentes concentrações (álcool 80%: 30 minutos, álcool 90%: 30 minutos, álcool 95%: 30 minutos, álcool 98%: 30 minutos, álcool 100% I: 30 minutos e álcool 100% II: 40 minutos), sendo posteriormente diafanizadas por imersão em Xilol (Xilol I: 40 minutos, Xilol II: 40 minutos e Xilol-parafina: 90 minutos). Após a completa desidratação foi realizado a parafinização (Parafina: 12 horas) e o emblocamento em Parafina Histológica (Parafina Histológica/Cera de abelha 4:1: 09 horas).

O material emblocado foi cortado em Micrótopo, em cortes de 6 a 7 µm de espessura. Estes foram montados em lâmina de vidro para microscopia (3,0 x 10,0 cm) contendo albumina, sendo assentados sobre chapa quente para distensão dos cortes. Na sequência, foram eliminados os resíduos de albumina e as lâminas permanecerão sete dias em estufa a 35 °C, para secarem completamente. Os cortes foram corados pelo método H/E (Hematoxilina/Eosina), para isto foi realizada a desparafinização (Xilol I: 15 minutos, Xilol II: 10 minutos, álcool 100% I: 5 minutos) e a reidratação destes (álcool 95%: 5 minutos, álcool 70%: 15 minutos, lavagem em água destilada corrente: 2 minutos). Para a coloração, os cortes foram banhados em Hematoxilina (4 minutos), lavados em água corrente (10 minutos), banhados em Eosina (2 minutos) e novamente lavados em água destilada corrente (10 segundos). Estes ficaram armazenadas em prateleira por três dias, para que os corantes secassem, e após dois dias foram recobertos por lamínulas de vidro para microscopia (2,3 cm 3,6 cm) e fixados com Bálsamo do Canadá.

As lâminas contendo os cortes foram pré-selecionadas em Microscópio de Luz Opton trinocular TNB-40T-PL, com câmera digital para captura de imagens, com auxílio do programa software ScopePhoto 2.04. Foram realizados testes quantitativos, comparando a altura das vilosidades do intestino das abelhas e testes qualitativos, com observações de alterações teciduais, comparando os tecidos das operárias de *A. mellifera* pulverizadas e alimentadas com os agentes de controle com as operárias pulverizadas e alimentadas com as soluções testemunha, avaliando-se as possíveis alterações provocadas por estes.

Os dados dos testes quantitativos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, com 5% de significância no programa Assistat (SILVA, 2012).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PULVERIZAÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE SOBRE *Apis mellifera*

Os produtos fitossanitários naturais Rotenat[®], Pironat[®], Natuneem[®], Natualho[®], Calda bordalesa e o entomopatógeno Btk, quando pulverizados sobre as operárias de *A. mellifera*, não apresentaram efeito negativo na longevidade, não diferindo da testemunha (Tabela 2).

Tabela 2 - Longevidade (em horas) (\pm EP) de operárias de *Apis mellifera* após pulverização de produtos fitossanitários naturais comerciais na concentração recomendada. Temperatura 30 ± 2 °C, 12 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$. UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos, 2013.

Tratamento	Longevidade (horas)
Testemunha	77,80 \pm 7,17 ab
Btk ¹	66,67 \pm 7,00 b
Rotenat [®]	92,00 \pm 5,67 a
Pironat [®]	62,00 \pm 5,19 b
Natuneem [®]	82,10 \pm 6,16 ab
Naturalho [®]	78,23 \pm 7,23 ab
Calda Bordalesa	69,00 \pm 5,93 ab
CV %	15,46

Dados transformados em logaritmo. Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P > 0,05$). ¹*Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki*

Embora o Btk (Thuricide[®]) utilizado no presente trabalho não tenha interferido na longevidade de operárias de *A. mellifera* quando comparado com a testemunha, Brighenti et al. (2007) verificou que 0,25g de Dipel[®]/100mL de água causou 62,2% de mortalidade porém, sem interferir na longevidade, que foi de 74,64 horas. No entanto, pulverizações acima de 2,5g de Dipel[®]/100mL de água interferiram na longevidade, reduzindo a menos de 60 horas. Esta diferença com os trabalhos realizador podem ser ocasionada por serem produtos distintos.

Quando comparados com os outros produtos verificou-se que o Btk e o produto Pironat uma redução na longevidade das abelhas (Tabela 2).

As variações da longevidade podem ser ocasionadas pela diferença de idade das abelhas empregadas nos testes, pois no presente trabalho foram utilizadas abelhas operárias recém emergidas com um dia de vida e, para os teste de Brighenti et al. (2007), também foram utilizadas abelhas operárias adultas, ou seja, em abelhas mais jovens o comportamento de higiene e lambadura são mais pronunciados, no qual uma abelha faz a limpeza do tegumento pela outra, proporcionando maior ingestão de esporos de bactérias e ocasionando a mortalidade.

Apesar de Rotenona (Rotenat[®] CE) não interferir na sobrevivência de *A. mellifera*, Xavier (2009) verificou que o Rotenat[®] CE causou mortalidade em 33% após o quarto dia de exposição ao produto, quando aplicado a concentração recomendada (1mL/200mL de calda) sobre as operárias de *A. mellifera*. Entretanto, o mesmo produto não foi tóxico à abelha *Nonnotrigona testaceicornis* (Lepetier) (Hymenoptera: Apidae). Efrom (2009) avaliou o efeito tóxico da Rotenona (Rotenat[®] CE) sobre as operárias *A. mellifera*, na concentração recomendada (1200mL/ 100L⁻¹), verificando longevidade maior que 48 horas para 69,5% das abelhas pulverizadas.

O produto Pironat[®], quando aplicado em diferentes concentrações (62,5, 125, 250 e 500 mL/ 100L) via tópica, não afetou a longevidade das operárias de *A. mellifera* nas primeiras 24 horas (100; 100; 100; 98,7), mas ao passar das 48 horas de aplicação houve um aumento significativo na mortalidade de *A. mellifera*, (97,6; 96; 94,3 e 93%, respectivamente às concentrações) (EFROM, 2009).

Semelhante ao obtido no presente trabalho, o óleo de nim na concentração recomendada (2L de Natuneem[®]/100L de água) quando aplicado sobre as operárias de *A. mellifera*, não afetou a sobrevivência desta abelha (SILVA et al., 2007). Observou-se que o produto Natuneem[®] não interferiu na longevidade das operárias de *A. mellifera* no presente trabalho (0,5mL/1L), no entanto, Xavier (2009) analisou que o nim (Natuneem[®]) foi o produto mais tóxico para as operárias de *A. mellifera* após quatro dias de exposição ao produto (0,2mL/100mL de calda), provocando mortalidade em 85%.

Em trabalhos de avaliação de seletividade de Natualho[®] sobre organismos não alvos, Xavier (2009) verificou toxicidade em adultos de *A. mellifera*, o qual provocou mortalidade em 55% das abelhas após quatro dias da aplicação, na dosagem recomendada.

Os agentes de controle, diferentemente dos produtos fitossanitários sintéticos, apresentam degradação mais rápida no ambiente, o que favorece o pouco contato com insetos considerados úteis ou organismos não alvo, podendo não interferirem na longevidade das abelhas e já os produtos fitossanitários sintéticos quando aplicados em lavouras, as abelhas

podem transportar resíduos destes produtos, juntamente com o néctar e o pólen, intoxicando as outras abelhas adultas e larvas que estão dentro da colmeia.

4.2 ADIÇÃO DOS AGENTES DE CONTROLE EM PASTA CÂNDI

Na ingestão da dieta contaminada (pasta Cândi com agentes de controle), verificou-se que tanto o entomopatógeno (*B. thuringiensis*) quanto os produtos fitossanitários naturais não apresentaram efeito tóxico sobre as abelhas *A. mellifera* (Tabela 3), fato observado pela não alteração da longevidade quando comparados às testemunhas.

Tabela 3- Longevidade (em horas) (\pm EP) de operárias de *Apis mellifera* após fornecimento de pasta Cândi misturada aos produtos fitossanitários naturais comerciais na concentração recomendada. Temperatura 30 ± 2 °C, 12 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$. UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos, PR, 2013.

Tratamento	Longevidade (horas)
Testemunha A ¹	80,20 \pm 9,42 ab
Testemunha B ²	84,3 \pm 11,58 ab
Btk ³	100,10 \pm 11,58 b
Rotenat [®]	100,37 \pm 13,95 ab
Pironat [®]	59,10 \pm 6,48 ab
Natuneem [®]	79,17 \pm 11,13 ab
Naturalho [®]	95,16 \pm 13,20 ab
Calda Bordalesa	56,50 \pm 7,88 a
CV %	20,67

Dados transformados em logaritmo. Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan ($P > 0,05$); ¹A- Adição de água destilada esterilizada à pasta Cândi; ²B- Pasta Cândi pura; ³*Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki*

Embora o Btk não tenha interferido na longevidade de *A. mellifera* no presente trabalho, Brighenti et al. (2007) observaram que o produto Dipel, nas concentrações de 0,25 e 1g do produto/60g de pasta Cândi na alimentação das operárias adultas de *A. mellifera*, provocou mortalidade em 54% e 68% destas, respectivamente e, após 72 horas do fornecimento, verificaram mortalidade superior a 94%, chegando a 100% nas concentrações de 10 e 20g. Após o fornecimento da pasta Cândi com o produto estes autores verificaram rejeição do alimento, ficando mais pronunciado quando utilizadas concentrações mais altas. Também verificaram grande fluxo de fezes liquefeitas na parede das gaiolas, possivelmente

ocasionadas por distúrbios intestinais, realizando análises das fezes através do método MBI obtendo o isolamento da bactéria *B. thuringiensis* confirmando a passagem desta bactéria no trato intestinal da abelha.

Efrom (2009) verificou que o fornecimento do produto Rotenat[®] CE (600 ou 1200mL/100L¹) adicionado à pasta Cândi, interferiu na longevidade de *A. mellifera*, que apresentou 89,2% e 76,6 % de sobrevivência 48 horas após ingestão. Este mesmo autor verificou que o produto Pironat[®] (62,5, 125, 250, 500mL/100L de água) adicionado à pasta Cândi, não interferiu na longevidade e sobrevivência das operárias de *A. mellifera*.

4.3 HISTOLOGIA DE *Apis mellifera* ALIMENTADA COM OS AGENTES DE CONTROLE

O comprimento das vilosidades do mesêntero de *A. mellifera*, quando alimentadas com pasta Cândi incrementada com os agentes de controle Btk, Rotenat[®], Natualho[®], Natuneem[®], Pironat[®] e Calda Bordalesa, não foram alterados, não diferindo do comprimento das vilosidades das operárias alimentadas com pasta Cândi pura (Testemunha) (Tabela 4).

As vilosidades do mesêntero de *A. mellifera*, quando esta foi alimentada com pasta cândi acrescida de Btk, apresentaram uma redução de 16,75 μ m (Figura 2B) e já quando alimentada com pasta cândi acrescida com o produto Natualho[®] apresentaram um aumento do tamanho de 13,73 μ m (Figura 2C). Apesar de não diferirem da testemunha significativamente 95,21 μ m (Figura 2A), pode-se verificar alterações estrutural e qualitativa, como se observa na Figura 2.

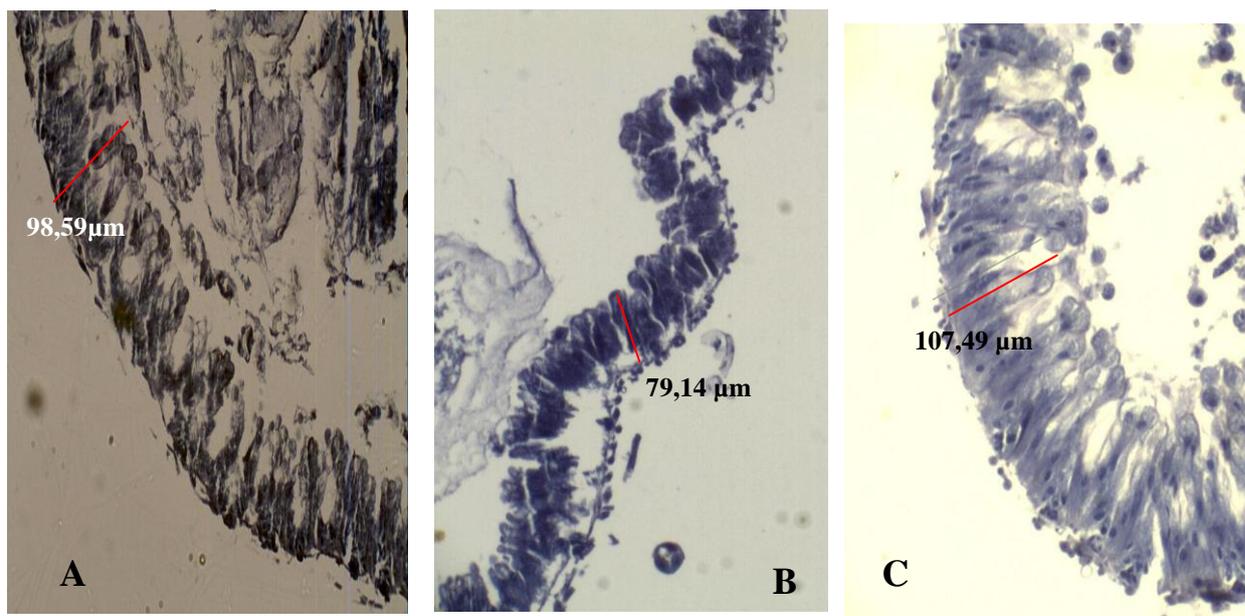


Figura 2. Foto micrografia de luz de mesêntero de *A. mellifera* (Microscópio de Luz Opton trinocular TNB-40T-PL, com câmera digital para captura de imagens utilizando uma objetiva de aumento de 10×); A) Alimentada com pasta Cândi pura; B) Alimentada com entomopatôgeno ¹*Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki* (Btk); C) Alimentada com produto fitossanitário natural Natualho[®].

Tabela 4: Comprimento (μm) (± EP) das vilosidades do mesêntero de operárias de *Apis mellifera* após alimentação com pasta Cândi misturada aos produtos fitossanitários naturais comerciais na concentração recomendada. Câmpus Dois Vizinhos, PR, 2013.

Tratamento	Vilosidades do mesêntero (μm)
Testemunha	95,21 ± 1,99 abc
Btk ¹	78,46 ± 2,57 c
Rotenat [®]	85,81 ± 5,91 bc
Natualho [®]	108,94 ± 3,69 a
Natuneem [®]	104,85 ± 4,50 ab
Pironat [®]	84,89 ± 5,99 bc
Calda Bordalesa	82,63 ± 7,46 bc
CV%	10,80

Médias (±EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05);

¹*Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki*

Ao realizar teste quantitativo das vilosidades do intestino (mesêntero) de *A. mellifera* as vilosidades do mesêntero composta pelos tratamentos quando comparadas com a testemunha não houve diferença significativamente (Tabela 4). Este fato também foi observado quanto à longevidade de operárias de *A. mellifera*, quando pulverizadas com os agentes de controle (Tabela 2) ou quando estes foram adicionados à pasta Cândi (Tabela 3). Verificando que estes agentes de controle não interferem negativamente na sobrevivência e longevidade de operárias de *A. mellifera*.

A parede do mesêntero de larvas de 4^o ínstar de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) apresentaram modificações após a ingestão de $0,183 \pm 0,077$ ng da proteína Cry1 Ac, presente nos discos de folhas de algodão Bt (AcalaDTL-90B). As modificações observadas foram morfológicas e ultraestruturas nas células caliciformes (produtoras de queratina) e colunares (envolvidas no processo de absorção e secreção de enzimas). Também verificaram diminuição no número de células regenerativas (renovação do epitélio), destruição da membrana peritrófica (proteção do epitélio) em algumas regiões do mesêntero e alteração da camada muscular (SOUSA et al., 2009).

Embora o produto Natuneem[®] não tenha observado alterações no mesêntero de *A. mellifera* no presente trabalho, em lagartas de 3^o ínstar de *Dione juno juno* Cramer, 1779 (Lepidoptera: Nymphalidae), após a ingestão de folhas de maracujá tratadas com diferentes concentrações deste produto (0,1; 0,25; 0,5 e 1%) foram observadas modificação do mesêntero, como alterações na morfologia das células epiteliais, redução do número de células regenerativas e dos ninhos formados por elas e afrouxamento da musculatura associada ao mesêntero (CARDOSO; CONTE; NANYA, 2011).

Larvas de 3^o ínstar de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) foram imersas em tanino catético isolado da planta do cerrado *Magonia pubescens* (Sapindaceae) a 37 ppm permanecendo por 24 horas. Após seis horas de aplicação do tratamento verificou-se alterações nas três regiões do mesêntero (anterior, mediana e posterior). As células da região anterior apresentaram grandes vacúolos citoplasmáticos e vesículas apicais, já na região mediana apresentou células vacuolizadas, com formas irregulares e aumento do espaço intercelular e na região posterior as células apresentaram-se muito vacuolizadas e em intensa atividade secretora. A extrusão da matriz peritrófica mostrou mecanismo de defesa da larva de *A. aegypti* que elimina todo o alimento contaminado com a substância larvicida (VALOTTO et al., 2010).

Em abelhas adultas os produtos fitossanitários naturais não ocasionaram alterações histológicas no mesêntero, necessitando de mais estudos histológicos para observar a influência destes produtos sobre as larvas de *A. mellifera*, que ainda são pouco conhecidas. Após as análises realizadas verificou-se que os agentes de controle também não apresentaram efeito negativo sobre a longevidade das abelhas, futuros testes de repelência ainda podem ser implementados a fim de respaldar ainda mais a seletividade dos agentes testados no presente trabalho.

A forma e o momento de utilização dos produtos fitossanitários naturais podem fazer com que diminua a exposição das abelhas aos produtos. Neste sentido, aplicações nos horários

em que a taxa de forrageamento é menor, pode diminuir o contato das abelhas com os produtos, como as aplicações destes produtos no final da tarde, onde a taxa de abelhas nas lavouras é menor. Também pode ser realizado o fechamento da entrada da colmeia durante o período das pulverizações, realizando a alimentação artificial durante este estágio. Essas são medidas para incrementar as ações de segurança para que as abelhas não se contaminem com produtos utilizados para o controle de insetos-praga. Mas muitas vezes estes tipos de manejos não são realizados, pois o fechamento das entradas das colméias por um tempo prolongado poderá ocasionar a morte das abelhas, então como uma alternativa para que não ocorra a contaminação das abelhas é levar as colméias para outro local tendo uma distância de 2,5 Km longe do local que será realizado a aplicação dos produtos fitossanitários naturais.

5 CONCLUSÃO

A longevidade das operárias de *A. mellifera* não foram alteradas tanto quando os agentes de controle foram pulverizados como quando foram adicionados a pasta Cândi.

A histologia do mesêntero de *A. mellifera* alimentada com pasta Cândi e os agentes de controle não exibiu modificações morfológicas e morfométricas.

Os agentes de controle testados no presente trabalho são alternativas para a utilização em culturas, pois além de fazer o controle não apresentam efeitos negativos na longevidade das abelhas *A. mellifera*.

REFERÊNCIAS

ABEMEL. Disponível em: < http://abemel.com.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=64&Itemid=86>. Acesso em: maio 2013.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: Alves, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998, p. 1163.

AMBIENTE BRASIL. **Controle natural de pragas**. 2009. Disponível em: <<http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./agropecuario/index.html&conteudo=./agropecuario/artigos/controlepragas.html>>. Acesso em: jul. 2013

ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. **Insecticide of plant origin**. Washington, DC, American Chemical Society. v. 387, p.214, 1990.

ARONSON, A.I.; SHAI, Y. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 1195, p. 1-8, 2001.

BAILEY, L; BALL, B.V. Honey bee pathology, 2 and Ed.Academic Press, London, United Kingdom.1991.

BAPTISTA, A.P.M.; CARVALHO, G.A.; CARVALHO, S.M.; CARVALHO, C.F.; BUENO FILHO, J.S. **Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apis mellifera***. Ciência Rural, v.39, n.4, p.955-961, 2009.

BELL, A. FELLOWS, L.E.; SIMMONDS, M.S.J. Natural products from plants for the control of insect pests. In: HODGSON, E.; KUHR, R.J. **Safer insecticide development and use**. New York and Basel, Marcel Dekker, p.337-383, 1990.

BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO J. R. Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. **Process Biochemistry**, New York, v. 41, n. 2, p. 323-342, 2006.

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). **Ciênc. Agrotec.. Larvas**, v.31, n. 2, p.279-289. 2007.

BRECHELT, A. **O manejo ecológico de pragas e doenças**. Fundação Agricultura e Meio Ambiente. p. 33. 2004.

BRUMATTI, C. R; SOUZA, C. W. O. de. **Controle Biológico**. 15 f. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos.

CAMARGO, João Maria Franco de (Org). **Manual de apicultura**, São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, p.19, 1972.

CARDOSO, A; CONTE, H; NANYA, S. Estudo morfológico do mesêntero em larvas de *Dione Juno Juno* Cramer, 1779 (Lepidoptera: Nymphalidae) submetidas à tratamentos com nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae) em condições de laboratório. VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar. CESUMAR – Centro Universitário de Maringá. Editora CESUMAR. Maringá. 2011.

CLARO, S.A. Referenciais tecnológicos para agricultura familiar ecológica: a experiência da Região Centro-Serra do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, p.250, 2001.

CLAUSEN, C.P. Biological control of insect pests in the continental United States. Washington, USDA. (Tech. Bull.1139), p.151, 1956 *apud* Parra et al., 2002.

COSTA, E.L.N. Ocorrência de artrópodes e seletividade de inseticidas na cultura do arroz irrigado. Tese (**Doutorado em Fitotecnia – Fitossanidade**), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: UFRGS, p.59, 2007.

COSTA, E. L. N; LUCHO, A. P. R; FRITZ, L. L; FIUZA, L. M. Artrópodes e Bactérias Entomopatogênicas. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento n° 38, p.4-13, 2010.

EFROM, C. F. S. **Criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) em dietas artificiais e avaliação de produtos fitossanitários utilizados no sistema orgânico de produção sobre esta espécie e insetos benéficos**. Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Agosto, p.89, 2009.

ELLIS, J.D; MUNN, P.A. The worldwide health status of honey bees. *Bee World* 86: p.88-101. 2005.

EMBRAPA. Disponível em <<http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programação/2009/manejo-e-controle-alternativo-de-pragas-na-agricultura-familiar>> Acesso em: ago. 2013.

FREITAS, G. B. Produção orgânica de fruteiras tropicais. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.) **Manejo integrado; produção integrada; fruteiras tropicais; doenças e pragas**. Viçosa, MG, p. 61-94, 2003.

FREITAS, B. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. A importância econômica da polinização. **Mensagem Doce**, n.80, p.44-46, 2005.

FRIES, I;CAMAZINE.S. Implications of horizontal and a vertical pathogens transmission for honey bee epidemiology. Review article. p. 199-214, 2001.

GALLO, D et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, p. 920, 2002.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis* biology, ecology and safety. **Chichester: John Wiley & Sons**, p. 350, 2000.

GLIESSMAN, S.R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**, 3ª ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.

GONÇALVES, L.S. Expansão da apicultura brasileira e suas perspectivas em relação ao mercado apícola internacional. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA. **Anais...** Porto alegre: CBA, 2004.

GONÇALVES, L.S. 50 anos de abelhas africanizadas no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA. Aracajú. **Anuais...**CBA, 2006.

HIGES, M.R; MARTÍN, A; SANZ, N; ALVAREZ, A; SANZ, M.P; GARCÍA, A. MEANA. El síndrome de despoblamiento de las colmenas em España. Consideraciones sobre su origen. **Vida Apícola** 133: p.15-21, 2005.

HIGES, M.R; MARTÍN, H. P; GARCÍA, P.P; MARÍN, A. MEANA. Horizontal transmission of *Nosema ceranae* (Microsporidia) from worker honeybees to queens (*Apis mellifera*). **Environ. Microbial. Rep.** 1: p.495-498, 2009.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: Embrapa-Soja, p. 68, 2011.

INVERNIZZI, C et al. Presence of *Nosemaceranae* in honeybees (*Apis mellifera*) in Uruguay. **J. Invertebr. Pathol.** 2009.

ISMAN, Murray B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology.**, Columbia, v.51, p.45-66, 2006.

JOHANSEN, C.A.; MAYER, D.F. **Pollinator protection: a bee & pesticide handbook.** In: FRIZZAS, M.R.; OLIVEIRA, C.M. **Plantas transgênicas resistentes a insetos e organismos não-alvo: predadores, parasitoides e polinizadores.** Universitas: Ciências da saúde, v.4, n,1/2, p.63-82, 2006.

KLAASSEN, C. D; WATKINS, J.B. **Essentials of toxicology.** New York: McGraw Hill. p. 533. 2003.

KNOWLES, B.H.; ELLAR, D.J. Colloid-osmotic lysis is a general feature of the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* γ -endotoxins with different insect specificity. **Biochem. Biophys. Acta.**, v. 924, p. 509-518, 1987.

KNOWLES, B.H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal deltaendotoxins. **Adv. Insect Physiol.**, v. 2, p. 257-262, 1994.

LUCHO, A.P.R. Manejo de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz irrigado. **Dissertação (Mestrado em Diversidade e Manejo da Vida Silvestre)**, Universidade do Vale do Rio dos Sinos. São Leopoldo: UNISINOS, p.73, 2004.

LUCKMANN, D. **Compatibilidade de produtos naturais comerciais a fungos entomopatogênicos e seletividade a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae).** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2011.

MARTINEZ, S. S. **O nin: *Azadirachta indica* – natureza, usos múltiplos, produção.** Londrina: IAPAR, 2002.

MOURÃO, S. A.; SILVA, J. C. T.; GUEDES, R. N. C.; VENZON, M.; JHAM, G. N.; OLIVEIRA, C. L.; ZANUNCIO, J. C. Seletividade de extratos de nim (*Azadirachta indica* A.

Juss.) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 613–617, set./out. 2004.

MORSE, R. A.; CALDERONE, N. W. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. **Bee Culture**, v.132, n.3, p.1-15, 2000.

NATURAL RURAL. Disponível em: <<http://www.naturalrural.com.br>>. Acesso em: 13 out. 2010. In: SMANIOTTO, L. F. **Seletividade de inseticidas alternativos a *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) –Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011.

NOGUEIRA-COUTO, R.H; COUTO, L.A. **Apicultura: Manejo e Produtos**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 193p.

NOGUEIRA NETO, Paulo. Notas sobre a história da apicultura brasileira. In: CAMARGO, J.M. F. (Ed). **Manual de apicultura**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1972.

PAULUS, G.; MÜLLER, A. M.; BARCELOS, L. A. R. Preparo e uso da calda bordalesa. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentavel**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, 2001 (Coordenação técnica: EMATER/RS).

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. São Paulo: Manole, p.1-16, 2002.

PENTEADO, S. R. **Defensivos alternativos e naturais**: para uma agricultura saudável. p. 79, 1999.

PENTEADO, S.R. **Defensivos Alternativos e Naturais**. 3.ed. Livros Via Orgânica: Campinas, SP, 2007.

PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. **Produção de mel**. Sistema de Produção. EMBRAPA Meio Norte, julho, 2003. ISSN 1678-8818. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mel/SPMel/autores.htm>>. Acesso em: 17 set. 2009.

PINTO, L.M.N. & FIUZA, L.M. Genes *cry* de *Bacillus thuringiensis*: uma alternativa biotecnológica aplicada ao manejo de insetos. **Biociências** 10(2): p.3-13, 2002.

POLANCZYK, R.A.; ALVES, S.B. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. *Agrociencia*, v.7, n.2, p.1-10, 2003.

PRATISSOLI, D; et al. Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Ciencia Rural*, Santa Maria, v, 36, n.2, p.369-377, mar-abr, 2006.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pragas e doenças: técnicas alternativas para a produção agropecuária e defesa do meio ambiente**. São Paulo: Nobel, 1994.

QUEIROZ, M.L. BARBOSA, S.B.P. AZEVEDO, M. Produção de geléia real e desenvolvimento da larva de abelhas *Apis mellifera*, na região Semi-Árida de Pernambuco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.449-453, 2001.

RAMOS, J.M; CARVALHO, N.C. Estudo morfológico e biológicos das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera*. **Revista científica eletrônica de engenharia florestal**. 2007.

REMBOLD, H. Azadirachtins: their structure and mode of action. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, p. 150–163, 1989.

RIBEIRO, R.O.R.; MÁRSICO, E.T.; JESUS, E.F.O. Elementos traço em méis de abelhas (*Apis mellifera*) do estado do Rio de Janeiro, Brasil: Influencia da sazonalidade. **Dissertação de Mestrado Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária**, Universidade Federal Fluminense, 2010.

ROBINSON, W. S.; NOWOGRODZI, R; MORSE, R. A. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops. Part II. **American Bee Journal**, v.129, n.7, p.477-487, 1989.

SAXENA, R. C. Inseticides from neem. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, p. 110–129, 1989.

SCHMUTTERER, H. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. **Journal Applied Entomology**, v, 121, p. 121-128, 1997.

SCHULER, T. H; POPPY, G. M; KERRY, B. R; DENHOLM, I. Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. **Trends in Biotechnology**, v.17, p.210-216, 1999.

SILVA, P. H. S; CARNEIRO, J.S; CASTRO, M. T. R. Ação biocida de óleos vegetais em ovos e ninfas da mosca-branca-do-cajueiro e operárias adultas de *Apis mellifera* L. **EMBRAPA**. 2007.

SILVA, F. de A.S.S; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p.71-78, 2012.

SMANIOTTO, L. F. **Seletividade de inseticidas alternativos a *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011.

SOUSA, M. E. C, et al. Análise morfológica e ultra-estrutural do mesêntero de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) frente à toxina Cry1 Ac. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal de Pernambuco. p. 54. 2009.

STORT, A. C.; GONÇALVES, L. S. Africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas. In: BARRAVIERA B. (Ed.). Venenos animais: Uma visão integrada. Rio de Janeiro: EPUC, Cap.3, p. 33-47, 1994.

THOMAS, C. J.; CALLAGHAN, A. The use of garlic (*Allium sativa*) and lemon peel (*Citrus limon*) extracts as *Culex pipiens* larvacides: Persistence and interaction with an organophosphate resistance mechanism. **Chemosphere.**, v.39, n 14, p. 2489-2496, dec. 1999.

TRINDADE, M. S. A et al. Avaliação da polinização e estudo comportamental de *Apis mellifera* L. na cultura do meloeiro em Mossoró, RN. **Revista Biologia e Ciências da Terra**,v.4, n.1, 2004.

VALEAGRO. Disponível em: http://www.valeagro.com.br/produtos_pironat.php. Acesso em jul. 2013.

VALICENTE, F.H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. Informe **Agropecuário**, Belo Horizonte, v.30, n.251, p.48-55. 2009.

VALOTTO, C.F.B; CAVASIN, G; SILVA, H.H.G; GERIS, R; SILVA, G. Alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera , Culicidae) causadas pelo tanino catéquico isolado da planta do cerrado *Magonia pubescens* (Sapindaceae). **Revista de patologia tropical**. Vol. 39. 2010. p. 309-321.

VAN DEN BOSCH, R; MESSENGER, P. S; GUTIERREZ, A. P. An introduction to biological control Interscience, p. 587, 1982 *apud* Parra et al., 2002.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D. H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agriculturas pests. In: POLANCZYK, R. ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. Agrocência vol. VII n° 2, p. 1-10.2004.

XAVIER, Vânia Maria. **Impacto de inseticidas botânicos sobre *Apis melífera*, *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae)**. Dissertação (*Magister Scientiae*), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 43 f. 2009.