

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DE ABELHAS Apis mellifera SUBMETIDAS À ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL COM ENZIMA

MARCOS VENÂNCIO LIMA

AREIA – PB AGOSTO 2014

MARCOS VENÂNCIO LIMA

AVALIAÇÃO DE ABELHAS *Apis mellifera* SUBMETIDAS À ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL COM ENZIMA

Trabalho Apresentado ao Curso de Graduação em Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) – Campus II, como requisito básico para obtenção do título de Graduado em Zootecnia.

Dra. Adriana Evangelista-Rodrigues ORIENTADORA

AREIA – PB AGOSTO 2014

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

L732a Lima, Marcos Venâncio.

Avaliação de abelhas *Apis mellifera* submetidas à alimentação artificial com enzima / Marcos Venâncio Lima. - Areia: UFPB/CCA, 2014.

34 f.: il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

Bibliografia.

Orientador: Adriana Evangelista-Rodrigues.

1. Apicultura – Alimentação 2. Abelhas – Alimentação artificial 3. Apis mellifera I. Adriana Evangelista-Rodrigues (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA CDU: 638.12

MARCOS VENÂNCIO LIMA

AVALIAÇÃO DE ABELHAS Apis mellifera SUBMETIDAS À ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL COM ENZIMA

Aprovado em:	_/_/_
	BANCA EXAMINADORA
_	
	Profa. Dra. Adriana Evangelista-Rodrigues
-	Profa. Dra. Débora Coelho Moura
-	Prof. Msc. Joaquim Efigênio Maia Leite

AREIA – PB AGOSTO 2014

DEDICATÓRIA

A grande heroína que me deu a vida e a oportunidade de permanecer nela, minha mãe, Dona Josefa Venâncio Lima nunca mediu esforços para me ajudar num que eu precisasse uma mulher guerreira que sempre sobressai dos desafios com um sorriso no rosto. Todas as minhas conquistas são e sempre serão para ela.

Dedica

Aos meus amigos Ricardo Daniel, Helder Holanda e Vladiene Ferreira, que mesmo estando distante sempre estiveram de alma presente, me apoiando, me erguendo nos momentos difíceis, mal sabem eles a força que me passam e o quanto me orgulham. Espero um dia retribuir um pouco dos ensinamentos de vida a mim passados, eu serei sempre grato pela doação de carinho feito por vocês.

Ofereço

Ao todo poderoso nosso Deus que sem Ele nunca poderíamos compartilhar de tantas alegrias e vencer tantos obstáculos, meu Pai sempre me mostrou o caminho a ser trilhado, Ele colocou em meu percurso tantas pessoas maravilhosas para que eu pudesse chegar nessa conquista.

Agradeço

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos que conquistei durante essa jornada, espero que nossa amizade seja compartilhada por vários anos, pois daqui a pouco tempo estaremos trilhando novos caminhos, mas estaremos sempre unidos em pensamento. Aos meus amigos de turma: Gildênia, Jaciara, Marcela, Robervânia, Layse, Ana Paula, Cláudio, Leonilson, Marcone, Lavosier. Outros nomes que são de extrema importância e merecem sempre um lugar na minha mesa e no meu coração: Ayron (Siridó), Fernando Mendonça, Gilmar Nunes, Junynho (Sabrina lyssa), Jhonata Feitosa, Flávia (Bodinha), Carine, Edilaine (mãe), Ana Carolina (Carol Nega), Jessica, Fatinha, Rosa Pessoa, Cristina Lima, Liete Trajano, Ana Jaqueline, Ana Isaura, Emanoel (Madonna), Renis Batista, Luciano Queiroz, Jucilândio (Jhucy), Gemes Cleiton. Aos meus queridos amigos que sempre estiveram mais próximos Raimundo Cézar, Augusto Queiroz e Kátia Valéria. Por fim, não menos importante agradeço a um amigo em especial que sempre esteve presente na minha vida desde tempos de EAFI me suportando me fazendo rir e também chorar, ele me ensinou a ouvir e a dizer menos NÃO e um pouco mais de SIM, ao meu querido Kilmer Oliveira Soares, onde nesse momento era pra estarmos juntos, mas o destino trilha caminhos um pouco diferentes.

A professora Juliana Silva pela contribuição nas análises de proteína e Elizabete Cristina pelo apoio e acompanhamento no laboratório. Ao querido Juraci Marcos pôr realizar as análises bromatológicas do alimento.

A minha orientadora, guia conselheira Adriana Evangelista-Rodrigues, sempre fez mais que seu papel de professora, com sua doçura e educação sempre me mostrou os melhores caminhos e me passou todos seus conhecimentos de forma humilde. Espero um dia me tornar um profissional perto do que essa mulher é hoje e não importa o rumo que a vida vá tomar espero sempre tê-la como uma amiga e companheira de trabalho.

A equipe NUPAM (Núcleo de Pesquisa em Apicultura e Meliponicultura), em especial para Vanuza Trajano que nessa reta final me ajudou muito para realização desse trabalho bem como a Ana Isaura. Ao Sr. Roberto que sempre ao precisar dele nunca deu um não, e agradeço sempre aos demais integrantes da equipe pela força e companheirismo.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica que contribuiu para realização dessa pesquisa.

SUMÁRIO

	Pag
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	X
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Alimentos das abelhas. 2.1.2 Alimentos naturais. 2.1.2 Alimentação artificial. 2.2 Exigências nutricionais das abelhas e digestão dos nutrientes.	3 4
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 Local e procedimento experimental	8 9 9 10 10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4.1 Avaliação da longevidade de abelhas em laboratório	11 13
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
REFERÊNCIAS	21
ANEXO	24

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Composição química da dieta em estudo	9
Tabela 2. Média geral do consumo de água, dieta e do teor de proteína total da hemolinfa das abelhas alimentadas em laboratório com dietas artificiais	14
Tabela 3. Média geral do consumo de água, dieta e do teor de proteína total da hemolinfa em μg/mL para a interação entre as duas famílias	15
Tabela 4. Média do teor de proteína total da hemolinfa em μg/mL no 0 dia (padrão) e ao 6° dia de idade para as duas famílias	19

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Alimentadores adaptados para abelhas no fornecimento de dietas em laboratório	8
Figura 2 . Interação família x dias para o número absoluto de indivíduos e dias de experimentação para os diferentes tratamentos para abelhas alimentadas em	
laboratório.	11
Figura 3. Curva de sobrevivência das abelhas da Família 01 alimentadas em laboratório. T1: Dieta padrão; T2: Dieta padrão + 0,03%; T3: Dieta padrão + 0,06%; T4: Dieta padrão + 0,09% de Enzima	12
Figura 4. Curva de sobrevivência das abelhas da Família 02 alimentadas em laboratório. T1: Dieta padrão; T2: Dieta padrão + 0,03%; T3: Dieta padrão + 0,06%; T4: Dieta padrão + 0,09% de Enzima	15
Figura 5 – Respostas dos indivíduos da Família 1 para o parâmetro consumo de dieta entre os tratamentos (média e desvio padrão)	16
Figura 6 – Respostas dos indivíduos da Família 2 para o parâmetro consumo de dieta entre os tratamentos (média e desvio padrão)	16
Figura 7 – Respostas dos indivíduos da Família 1 para o parâmetro proteína total na hemolinfa entre os tratamentos (média e desvio padrão)	17
Figura 8 – Média e Desvio Padrão da concentração de proteína total na hemolinfa para a Família 2	18

RESUMO

Objetivou-se identificar uma alimentação eficiente para as abelhas Apis mellifera fazendo uso de enzimas, com o intuito de melhorar o desempenho dos enxames em períodos de escassez alimentar. Para isso, quadros de cria madura foram retirados de dentro de colmeias, conduzidos até uma câmera de fertilização e, após a emergência, as abelhas foram postas em unidades experimentais. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Abelhas (LABE), localizado no Setor de Apicultura e Sericicultura do Centro de Ciências Agrárias pertencente à Universidade Federal da Paraíba. A dieta utilizada na pesquisa foi composta por 60% de Mel, 30% de Farinha de Soja e 10% de Farinha de Milho, sendo que cada tratamento, exceto o controle, foram adicionados diferentes porcentuais de um complexo enzimático. Os parâmetros avaliados foram: longevidade das abelhas, a concentração de proteína total da hemolinfa, o consumo de água e o consumo das dietas. Foi observada diferença significativa na interação famílias versus dias de sobrevivência na avaliação da longevidade. Analisando a concentração de proteína total na hemolinfa e o consumo de dieta, verificou-se uma diferença estatística na interação entre famílias, bem como analisando distintamente, obtendo como resultado uma redução no consumo, conforme foi acrescentado o complexo enzimático na dieta e um aumento no teor de proteína na hemolinfa. Na interação famílias versus tratamentos, analisando a concentração de proteína total foi encontrada diferença apenas entre o Padrão e o T3. A enzima na alimentação artificial se mostrou como uma ferramenta para manter os enxames no período de escassez alimenta, pois as enzimas exógenas, melhoraram as características dos alimentos e apresentaram efeito benéfico para as abelhas alimentadas em gaiolas experimentais.

Palavras-chave: hemolinfa, proteína total, nutrição, enzimas, longevidade

ABSTRACT

This study aimed to identify an efficient feeding for Apis mellifera using enzymes to improve the performance of swarms in times of food scarcity. For that, frames of mature brood were removed from inside the hives, led by a camera of fertilization and, after emergence, the bees were put into experimental units. The survey was conducted in the Laboratory of Bees (LABE), located in Sector of Apiculture and Sericulture at Center Agricultural Sciences of the Federal University of Paraíba. The diet used in the study was composed of 60% of Honey, 30% Soy Flour and 10% Corn Flour, each treatment except the control, were added different percentages of the enzyme complex. The parameters evaluated were: longevity of bees, the total protein concentration of hemolymph, water consumption and the consumption of diets. Significant difference was observed in the interaction of families x days of survival in the assessment of longevity. Analyzing the total protein concentration in the hemolymph and the consumption of diet, was found a statistical difference in the interaction between families, as well as analyzing distinctly, the result being a reduction in consumption as the enzyme complex was added in diet and an increase in the content protein in the hemolymph. In the interaction of families x treatment analyzing total protein concentration, differences were found only between the control treatment and T3. The enzyme in artificial feeding was shown as a tool to keep the swarms during the period of scarcity feeds, because the exogenous enzymes improved the characteristics of the food and had a beneficial effect for bees fed on the experimental cages.

Keywords: hemolymph, total protein, nutrition, enzymes, longevity

1. INTRODUÇÃO

A apicultura é uma atividade desenvolvida no mundo inteiro e no Brasil tem alcançado grande desenvolvimento dentre as atividades agropecuárias nos últimos anos, com destaque para a Região Nordeste, está consolida-se como uma importante fonte de renda no meio rural para os pequenos produtores. O maior incentivo do governo nos últimos anos, com políticas voltadas aos pequenos produtores, tem ajudado no aumento dos índices produtivos.

Os produtores rurais nordestinos utiliza a apicultura como uma fonte alternativa de renda, sendo que poucos se organizam em associações ou cooperativas. Esta atividade confere baixo emprego de tecnologias e auxilio técnico de profissionais capacitados. Com isso, há baixos índices de produção gerando um enfraquecimento na cadeia produtiva.

Entretanto, o mel produzido no bioma Catinga confere características próprias por ser proveniente de uma vegetação nativa que contem uma diversidade de plantas. Isso faz com que haja uma valorização dos produtos apícolas, possibilitando a comercialização. É uma atividade caracterizada pela sustentabilidade dos recursos naturais e a conservação das espécies da Catinga, dando condições para o mercado externo e favorecendo o desenvolvimento da atividade no país.

O clima da região Nordeste é caracterizado por duas estações bem definidas, uma compreendida por um período chuvoso com bastante abundância de recursos e outra de uma estação de estiagem, nessa fase a grande maioria das culturas passa por um período de entressafra. Na busca de novos pastos no período de escassez alimentar, vários apicultores do semiárido brasileiro perdem colônias anualmente (PEREIRA, 2005). Durante a estiagem, ocorre uma escassez de pasto apícola e no período chuvoso há uma diversidade de flora apícola com alta concentração de recursos florais (néctar e pólen) (COELHO et al, 2008). As abelhas têm as características produtivas e reprodutivas influenciadas pelo clima e disponibilidade de alimento na região (COSTA et al, 2007).

Assim, para conseguir manter os enxames no período de entressafra é necessário fazer uso de uma alimentação artificial. Essa ferramenta fará com que as colmeias estejam com a população de abelhas em um nível produtivo ao entrar no período de floração, não necessitando de um período maior de recuperação dos enxames (CASTAGNINO et al, 2006). Pereira et al (2006) relatam, que os motivos que impedem a alimentação das colônias no período necessário é a falta de recursos para adquirir o alimento e o desconhecimento de produtos que possam ser oferecidos às abelhas.

A inclusão de aditivos enzimáticos nas rações tem apresentado grande potencial para a indústria de produção animal, há uma melhora no aproveitamento dos nutrientes com o uso de enzimas exógenas, podendo representar uma economia significativa no custo final das rações (GENTILINI et al, 2008).

O objetivo desse trabalho é identificar uma alimentação eficiente para as abelhas *Apis mellifera* fazendo uso de enzimas, com o intuito de melhorar o desempenho dos enxames em períodos de escassez alimentar.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Alimentos das abelhas

Os nutrientes são captados pelas abelhas nas fontes alimentares, através de adaptações em seu corpo que permitem transportar os recursos até as colmeias, podendo armazená-los. As abelhas tiveram uma adaptação para sugar néctar, através das modificações bucais em uma probóscide (RAMALHO et al, 1991). Os principais alimentos das abelhas são o néctar e o pólen, sendo o primeiro uma fonte energética e o segundo a fonte de proteínas. O mel é outro alimento formado a partir das demais fontes, é estocado nos favos dentro da colmeia, utilizado na sua alimentação quando necessário. Fontes alternativas são estudadas para alimentar as abelhas nos períodos de escassez, denominada de alimentação artificial.

2.1.1. Alimentos naturais

Para o completo desenvolvimento e crescimento, as abelhas requerem proteínas, carboidratos, minerais, lipídios, vitaminas e água, sendo esses nutrientes obtidos por meio da busca de pólen, néctar e água (COSTA et al, 2007).

O néctar, ao ser capturado pelas abelhas, é adicionado enzimas provenientes da glândula hipofaringeana, principalmente, invertase, diástase, glicose-oxidase (PEREIRA, 2005). Essa é uma solução com uma variabilidade de água e açúcares, sendo a fração mais importante, onde os açúcares mais representativos são a sacarose, a glicose e a frutose (COELHO et al, 2008). A sacarose não é utilizada diretamente pelas abelhas para sua alimentação sem que ocorra sua inversão, mesmo que parcial (BRIGHENTI, et al, 2011).

Segundo Brasil (2000), o mel é produzido pelas abelhas *Apis mellifera* a partir do néctar das flores, passa por um processo de transformação através de substâncias própria, depois é armazenado e deixado maturar na colmeia. Alvim (2004), relata que o mel é elaborado do resultado de duas modificações principais sofridas pelo néctar, onde através da enzima invertase transforma a sacarose em glicose e frutose, e outra transformação física pela desidratação, através da evaporação na colmeia e absorção no papo. No mel concentram-se principalmente dois monossacarídeos o D-frutose e D-glicose, e os oligossacarídeos presentes podem ser alterados pela ação de enzimas e leveduras osmofílica (MOREIRA e DE MARIA, 2001).

Para as abelhas, a principal fonte de proteína para alimentação dos indivíduos adultos e das larvas depende da disponibilidade de pólen (NETO-VOLLET et al, 2010). O pólen é rico em proteínas, que servem de matéria prima para o crescimento e restauração dos tecidos

no animal (MODRO, et al 2007). Em uma análise da composição do pólen apícola coletado no Estado de Minas Gerais, Modro et al (2007) encontraram uma variação entre 15,79 e 40,53% de proteína total, extrato etéreo 0,19 a 5,56% e carboidratos totais 54,43 a 77,22% entre dois apiários diferentes. Nesse estudo obteve-se como resultado, que o pólen de influenciam na qualidade do pólen apícola. O pólen tem em sua produção, um custo mais elevado que a de néctar porque requer nitrogênio; dentro dos componentes alimentares esse é o que geralmente limita o crescimento e a fecundidade de insetos (COELHO et al, 2008; PARRA, 1991).

A água é um nutriente essencial para manter os seres vivos. A exigência das abelhas por água relaciona-se com o sistema excretor e respiratório, com a umidade relativa do ar e de perda do inseto pela cutícula (PEREIRA, 2005). A água desempenha um papel importante para o controle da temperatura da colmeia, podendo ocasionar uma série de reações no comportamento das abelhas, por conta do aumento da temperatura interna (PINTO, 2010).

2.1.2. Alimentação artificial

O alimento na forma artificial não substitui os alimentos naturais utilizados pelas abelhas, mas diminui os impactos causados no período de entressafra. Nas regiões onde há um período de estiagem e escassez alimentar, esse manejo auxilia na manutenção dos enxames.

A prática da suplementação alimentar deve ser uma etapa do manejo produtivo e não deve ser feita isoladamente no apiário (SCHAFASCHEK et al, 2008).

A apicultura é uma atividade dependente dos recursos florais e, de acordo com as condições climáticas e ambientais de cada região pode haver uma oscilação na produção (PEREIRA et al, 2006), podendo ter uma redução da postura da rainha e um desequilíbrio da população na colmeia em períodos de escassez de néctar e de pólen (CASTAGNINO, 2006). Para manter dessa forma a colônia e não diminuir a produção na safra seguinte se faz necessário, nesse caso, ofertar uma alimentação artificial (COELHO et al, 2008).

Pereira et al (2006) avaliaram o desenvolvimento de colônias com diferentes alimentos proteicos, a partir da utilização de produtos regionais do Nordeste. Foi observado que as três formulações testadas podem ser fornecidas no período da entressafra para manutenção das colônias. As dietas foram formuladas com feno de mandioca, farinha de vagem de algaroba, farelo de babaçu, pólen apícola de palma e sucedâneo lácteo comercial.

O pólen apícola tem sido utilizado juntamente com outros ingredientes na alimentação artificial, sendo que esse ingrediente pode ser economicamente inviável para muitos

apicultores, bem como alguns outros produtos que são incrementados nas dietas. O pólen armazenado artificialmente tem o valor nutritivo dependente das condições de secagem, temperatura, duração do tempo de armazenamento e da planta de origem do pólen (MARCHINI et al, 2006). De Jong et al, (2009) fez uma ressalva que o pólen pode transmitir doenças através de organismos vivos, além de alto valor agregado. Em estudo com a utilização do Promotor L em colmeias de *Apis melífera*, foi verificado que não houve influência no crescimento da área de cria, aumentando os custos com a alimentação (CASTAGNINO et al, 2006).

Pereira (2005) fala que durante a floração de plantas com nível elevado de toxidade para desviar as abelhas dessa fonte, é importante o auxilio da alimentação artificial. Castagnino et al (2011) verificaram uma alimentação com substituto de pólen em alimentadores coletivos durante a floração do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) com intuito de diminuir a incidência da cria ensacada brasileira causada por essa planta. A pesquisa mostrou que as colônias alimentadas com o substituto de pólen apresentaram redução estatisticamente significativa na mortalidade de cria, quando comparadas com as colônias que não tiveram acesso a essa dieta.

Dependendo do tipo de exploração apícola em período de escassez de néctar é comum a suplementação alimentar dos enxames com dietas que contenha sacarose, podendo utilizar o "açúcar invertido", sendo obtido por meio da hidrólise ácida e aquecimento, usando o ácido cítrico em solução aquosa de açúcar cristal (1:1), sendo recomendado o uso de 0,18 g para cada 100 g de açúcar, obtendo uma inversão de 21,0% da sacarose (BRIGHENTI et al, 2011).

Sabe-se que o único alimento da abelha rainha é a geleia real e das larvas de operárias até o 3° dia de vida, sendo esse alimento de extrema importância para a manutenção das colônias. A suplementação alimentar na produção de geleia com farinha láctea misturada ao açúcar refinado apresenta uma forma viável para ser utilizada, viabilizando o aproveitamento dos apiários para a produção de geleia real (PERLIN, 1999). Em estudo, Sereia et al (2013) analisaram fontes alternativas para *Apis mellifera* na produção de gelia real e das seis dietas testadas, obtiveram como resultado que suplementação com a mistura de óleo de linhaça e óleo de palma, soja isolada levedura de cerveja e proteína é recomendado para aumentar a produção de geleia real.

2.2. Exigências nutricionais das abelhas e digestão dos nutrientes

Para o completo desenvolvimento das abelhas é necessário o fornecimento de proteínas com a composição de aminoácidos correta (PEREIRA, 2005). Em sua pesquisa Marchini (2006) relatou que as abelhas necessitam de dez aminoácidos essenciais e todos são obtidos do pólen, sendo eles: arginina, histidina, lisina, triptofano, felinanima, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina.

No período compreendido entre o 3° e o 11° dia de vida as abelhas desempenham a função de nutrir as lavas. Para isso as abelhas nutrizes consomem muito pólen estocado no favo, produzindo uma secreção proteica conhecida como geleia real, sendo distribuído como alimento larval (SEREIA, 2009). As abelhas nutrizes além de proteína precisam de vitaminas como as do complexo B, tiamina, ácido pantotênico, riboflavina, nicotinamida, ácido fólico e biotina, além dessas vitaminas, o ácido ascórbico, pois estes tem papel fundamental no crescimento das larvas (TURCATTO, 2011).

Para a síntese da geleia real as abelhas utilizam carboidratos, vitaminas, ácidos graxos, minerais e aminoácidos essenciais (SEREIA, 2009). Do total de proteínas da geleia larval entre 82 e 90% é constituído das Major Royal Jelly Protein (NAKASUGUI et al, 2009). A nutrição das larvas é progressiva nas abelhas do gênero *Apis*, dependendo em grande parte do desenvolvimento das glândulas hipofaringeanas das operárias adultas (NETO-VOLLET et al, 2010).

Os lipídeos são utilizados pelos insetos podendo ser sintetizados a partir dos carboidratos e proteínas, onde o ácido linoleico e o linolênico não são sintetizados, tidos como essenciais (PARRA, 1991). Foi verificado no pólen capturado pelas abelhas *A. mellifera* uma variação em porcentagem de lipídeos de 5,1 a 2,2% (MARCHINI et al, 2006). São encontradas, tanto na geleia real quanto no mel produzido pelas abelhas, as enzimas lipases que catalisam a hidrólise de acilgliceróis em ácidos graxos, diacil gliceróis, monoacilgliceróis e glicerol (NAKASUGUI et al, 2009).

Há baixos níveis de glicogênio nas abelhas adultas, quando necessitam de energia buscam o mesmo nas reservas de mel dentro da colônia, isso de acordo com as necessidades fisiológicas como, execução de diferentes tarefas durante o estágio adulto e com as funções desempenhadas dentro da colônia, sendo determinadas as exigências nutricionais das operárias (TURCATTO, 2011).

A digestão nas abelhas pode ser iniciada no papo, por serem encontradas bactérias e enzimas que podem ser originárias de glândulas, da regurgitação ventricular ou produzida pelas próprias bactérias presentes (CRUZ-LANDIM, 2009). As enzimas invertase e a diastase

quebram a sacarose e o amido e invertem a sacarose em glicose e frutose, e a glicose-oxidase, uma enzima adicionada ao néctar, reage com a glicose formando ácido glicônico e peróxido de hidrogênio (PEREIRA, 2005).

Presente na secreção das glândulas hipofaringeanas encontra-se a sacarase (alfaglicosidase), responsável pela hidrolização da sacarose (TERRA, 1991). De acordo com Cruz-Landim (1991), no intestino médio existe um grupo de células que podem se denominadas de principais, digestivas ou enterócitos. Estas, segundo o mesmo autor, são responsáveis pela secreção das enzimas digestivas e absorção dos nutrientes, ocorrendo assim a maior parte da digestão.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e procedimento experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Abelhas (LABE), localizado no Setor de apicultura e sericicultura do Centro de Ciências Agrárias pertencente à Universidade Federal da Paraíba, Campus II - Areia - PB.

As abelhas utilizadas para a realização da pesquisa tiveram origem em duas colmeias do apiário do Setor de Apicultura e Sericicultura. Para o início do experimento dois quadros de cria madura, foram retirados de dentro das colmeias, e conduzidos até uma câmera de fertilização (B.O.D). Após a emergência, as abelhas foram postas em unidades experimentais, composta por béqueres com volume de 600 ml, cobertos com filó e com alimentadores adequados para o fornecimento das dietas e da água (Figura 1). Para a análise, o experimento foi composto por quatro tratamentos com cinco repetições de cada.



Figura 1. Alimentadores adaptados para abelhas no fornecimento de dietas em laboratório. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

3.2. Preparo da dieta

A dieta utilizada na pesquisa é uma recomendação da EMPRAPA CLIMA TEMPERADO (2002), formulada através da mistura de três ingredientes com diferentes proporções: 60% de Mel, 30% de Farinha de Soja e 10% de Farinha de Milho. Obteve-se então, uma dieta com consistência firme e pastosa, tida como padrão e servindo como tratamento controle, pois a partir dela foi adicionado um complexo enzimático em níveis nos demais tratamentos para verificar o efeito das enzimas no alimento das abelhas.

Foi utilizado o complexo enzimático Allzyme® SSF produzido pela Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda que é um, aditivo composto por sete diferentes enzimas: fitase, protease, xilanase, β-glucanase, celulase, amilase e pectinase.

Para cada tratamento, exceto o controle, foram adicionados diferentes porcentuais do complexo enzimático na dieta padrão, assim os tratamentos consistiram de:

T1: Dieta padrão (Tratamento Controle);

T2: Dieta padrão + 0,03% de Enzima (Allzyme® SSF);

T3: Dieta padrão + 0,06% de Enzima (Allzyme® SSF);

T4: Dieta padrão + 0,09% de Enzima (Allzyme® SSF).

Tabela 1 - Composição química da dieta em estudo

	Matéria Seca (%)	Proteína bruta (%)	Estrato Etéreo (%)
Dieta Padrão	81,14	13,09	6,57

3.3. Avaliação da longevidade de abelhas em laboratório.

Foram utilizadas 20 unidades experimentais contendo abelhas recém-nascidas de uma mesma colônia, sendo que cinco foram alimentadas apenas com a dieta padrão; cinco alimentadas com a dieta padrão + 0,03% de enzima; cinco alimentadas com a dieta padrão + 0,06% de enzima, e as outras cinco unidades alimentadas com a dieta padrão + 0,09% de enzima.

Cada unidade continha 20 abelhas, num total de 100 abelhas para cada tratamento. As unidades foram mantidas em uma câmera de fertilização com 33°C e 80% de temperatura e umidade relativa, respectivamente. A avaliação de sobrevivência e resistência à alimentação artificial foi analisada pela contagem de abelhas sobreviventes a cada 24 horas durante um período de 11 dias.

3.4. Determinação da concentração de proteína total na hemolinfa de abelhas alimentadas em laboratório

Para a avaliação de concentração de proteína total na hemolinfa, imediatamente após a emergência 10 abelhas operárias foram coletadas e a hemolinfa das mesmas extraídas com uma micropipeta e esta amostragem foi denominada de Padrão. Esta coleta serviu para efeito comparativo com os tratamentos que foram confinados e receberam a alimentação artificial. Cada tratamento, apresentava 200 abelhas divididas em cinco repetições com 40 abelhas em cada, ao final de sete dias, foi coletada a hemolinfa de outras 10 operárias de cada tratamento.

Para esta coleta, as abelhas foram anestesiadas no gelo durante 10 minutos. Após isso, foi retirada a hemolinfa, com o auxílio de uma micropipeta introduzida no coração dorsal, através da membrana intrasegmental, entre o terceiro e o quarto segmentos abdominais da abelha adulta, transferindo-a para tubos de eppendorf de 0,6 ml. Uma solução com 0,1% de feniltiouréia (Sigma-Aldrich ®, P-7629, Grau I, 98%) (PINTO, 2010) foi formada e acrescentada três gotas juntamente às amostras para prevenir a ocorrência de reações indesejáveis, como a melanização.

As amostras foram centrifugadas a 1400 rpm por 4 minutos à 4°C. O sobrenadante foi retirado e congelado à -20°C. A quantificação total de proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976) e a construção da curva padrão foi realizada utilizando albumina sérica bovina (BSA). A quantificação das amostras foi realizada por leitura em um comprimento de onda de 595 nm espectrofotômetro (TURCATTO, 2011).

3.5. Avaliação do consumo dos alimentos

O consumo das dietas foi determinado através da diferença do peso total do alimento ofertado no primeiro dia, menos o peso total das sobras após sete dias de confinamento, sendo que cada tratamento conteve 200 abelhas divididas em cinco repetições com 40 abelhas, assim igualmente para determinar o consumo de água.

3.6. Análise estatística

Os dados foram avaliados através de estudo estatístico pela interação de fatores experimentais, em esquema fatorial 4x2 (4 tipos de dietas e 2 famílias), utilizando-se o procedimento GLM do SAS (2001). As médias entre tratamentos foram comparadas pelo teste F a 5% de significância para a avaliação da longevidade das abelhas, e a concentração de proteína total na hemolinfa, consumo de água e consumo de dieta aplicou-se o teste Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da longevidade de abelhas em laboratório.

Pelos resultados obtidos, não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos (dietas) para os parâmetros estudados, tanto para as abelhas da Família 1 como para a Família 2 ao nível de 5% de probabilidade. Porém, quando se fez a interação famílias x dias de sobrevivência, houve diferença significativa para os dias de sobrevivência das abelhas entre as duas famílias estudadas (p<0,001) apresentando efeito quadrático conforme Figura 2. Assim, afirmando que para a longevidade das abelhas há efeito da genética, já que o efeito do ambiente foi eliminado, e as duas famílias estavam sob o efeito dos mesmos tratamentos.

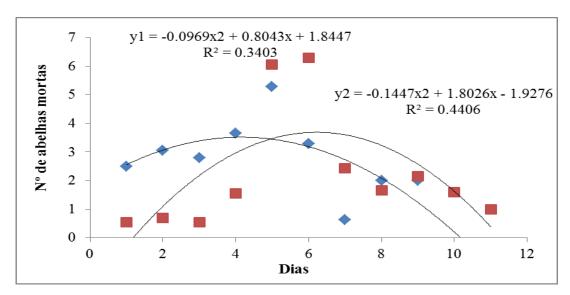


Figura 2. Interação família x dias para o número absoluto de indivíduos e dias de experimentação para os diferentes tratamentos para abelhas alimentadas no Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

As operárias consomem grandes quantidades de pólen durante os primeiros cinco ou seis dias de vida adulta para obter proteína que vão garantir seu desenvolvimento (COSTA et al, 2007). Nessa fase da vida, as abelhas desempenham na colmeia a atividade de nutrir as larvas, e para isso usam parte do alimento consumido para produzir geleia real. Sendo assim, há uma indicação de que as dietas fornecidas, mesmo com a adição de enzima não foi o suficiente para suprir as necessidades nutricionais das abelhas nesta fase, pois houve um número maior de morte no quinto e sexto dias, tanto para as abelhas da Família 01 como para as abelhas da Família 02.

Mesmo sendo uma recomendação da EMBRAPA, a dieta estudada não se mostrou, para esta análise, como um alimento positivo para seu uso exclusivo, pois os dias de sobrevivência foram relativamente baixos, sendo que no campo o alimento é suplementar e, junto com os alimentos naturais, pode ter um melhor desempenho. Em estudo Almeida (2013) comparou diferentes dietas com efeito da fermentação induzida com abelhas confinadas; usou um tratamento controle alimentado com pólen verificando uma sobrevivência média de 26 dias recomendando o alimento, pois não teve diferença estatística entre os tratamentos e as dietas se assemelharam com o pólen fornecido.

Para interação entre os tratamentos, embora não tenha tido diferença estatística, podese observar na Figura 3 um aumento no número de dias na sobrevivência das abelhas oriundas da Família 01, tendo uma relação direta com o acréscimo da enzima na dieta, haja vista que no Tratamento 1 (T01 - sem adição de enzima) todas as abelhas morreram no sétimo dia. O gráfico mostra um efeito benéfico no uso de enzima na alimentação artificial, porque na medida em que foi adicionada a enzima houve um aumento nos dias de sobrevivência das abelhas, chegando até nove dias para o Tratamento 4 (T04 – 0,09% de enzima).

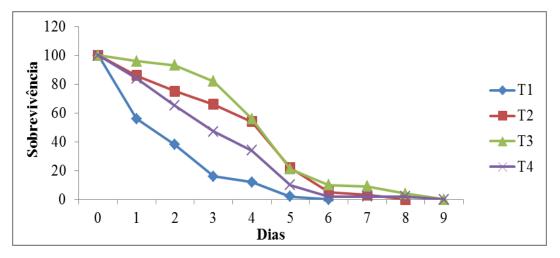


Figura 3. Curva de sobrevivência das abelhas da Família 1 alimentadas em laboratório. T1: Dieta padrão; T2: Dieta padrão + 0,03%; T3: Dieta padrão + 0,06%; T4: Dieta padrão + 0,09% de Enzima. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

Para a Família 2, observa-se que a mortalidade iniciou a partir do quarto dia, tendo uma ótima taxa de sobrevivência do primeiro ao terceiro dia para todos os tratamentos (Figura 4). Estes resultados diferem da Família 1 (Figura 3) onde a taxa de mortalidade iniciou no primeiro dia para todos tratamentos, exceto o T3 (0,06% de enzima).

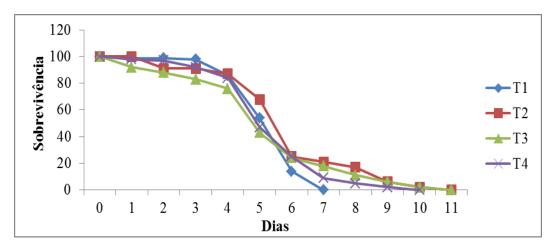


Figura 4. Curva de sobrevivência das abelhas da Família 2 alimentadas em laboratório. T1: Dieta padrão; T2: Dieta padrão + 0,03%; T3: Dieta padrão + 0,06%; T4: Dieta padrão + 0,09% de Enzima. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

Os tratamentos apresentam resultados semelhantes ao final do experimento com relação à mortalidade das abelhas, no entanto, as abelhas do T1 sobreviveram até o sétimo dia enquanto as abelhas do T2, T3 e T4 permaneceram vivas até 11 dias.

4.2. Avaliação dos parâmetros nutricionais em abelhas alimentadas em laboratório.

Durante o período experimental na avaliação de consumo de água, dieta e concentração de proteína total na hemolinfa, foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos na média geral das Famílias 1 e 2 (P<0,001) (Tabela 2). O maior e menor consumo de água foi observado no T1 e T4, respectivamente, mostrando diferença estatística. Para o consumo da dieta verificou-se uma diferença entre o T1 e T4, com o T1 apresentando também o maior consumo de dieta (4,13 g) ao longo de todo período experimental. Para a análise da concentração de proteína total na hemolinfa houve diferença estatística, tendo o Padrão o maior valor.

Tabela 2 - Média geral do consumo de água, dieta e do teor de proteína total da hemolinfa das abelhas alimentadas em laboratório com dietas artificiais. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

	Água (g)	Dieta (g)	Proteína Total (µg/mL)
Padrão*	-	-	63,54 a
T1	5,49 a	4,13 a	18,50 d
T2	4,07 ab	2,83 b	23,50 dc
T3	4,46 ab	2,54 b	30,91 bc
T4	3,77 b	1,60 c	35,12 b

^{*}Padrão: Valor de proteína total na hemolinfa das abelhas recém-emergidas das parcelas alimentadas em laboratório.

Valores com letras diferentes na mesma coluna representam valores significativos para os parâmetros avaliados (P<0.001).

As abelhas do tratamento sem enzima (T1) apresentaram o maior consumo de dieta (4,13 g) e na medida em que foi sendo acrescentado o complexo enzimático, pode-se notar um menor consumo de alimento. Provavelmente o complexo enzimático tenha atuado sobre a dieta melhorando suas características, tornando os nutrientes mais disponíveis, suprindo no momento as necessidades da abelha necessitando de uma menor ingestão de alimento por parte dos indivíduos, fazendo com que o consumo diminuísse.

Gentilini et al (2009) descrevem que o complexo multienzimático da Allzyme® SSF é produzido a partir do fungo *Aspergillus niger* não geneticamente modificado, o qual é capaz de aumentar a disponibilidade da energia, da proteína, dos aminoácidos, sendo que cada enzima atua sobre substratos específicos, como exemplos, fitase atua sobre o ácido fítico, protease sobre proteínas e celulase sobre celulose e isto faz com que estes substratos sejam melhor aproveitados pelo animal. Embora não se tenha trabalhos com o complexo multienzimático da Allzyme® em insetos, o presente trabalho pelos resultados confirma a atuação da enzima conforme descrito pelo autor quando desenvolveu trabalho com aves.

No alimento larval podem ser encontradas enzimas que provavelmente estejam relacionadas às funções digestivas, em destaque para as: Fosfatase Alcalina, Esterase (C4), Esterase Lipase (C8), Fosfatase Ácida, Naftol-AS-BI-fosfohidrolase, - galactosidase, e glicosidase todas estas foram encontradas nos testes enzimáticos do alimento larval (MENEZES et al, 2007). Cruz-Landim (2009) reporta que as enzimas envolvidas na digestão podem ser produzidas pelas glândulas anexas do tubo digestório, produzidas pelas células principais ou ainda por microrganismos ali presentes.

Para o consumo de água, o tratamento que teve a maior ingestão também foi o sem a enzima (T1) e a menor no tratamento com 0,09% de enzima (T4).

As abelhas utilizam a água principalmente para diluição do mel e preparo do alimento para as larvas (COELHO et al, 2008). A água e os sais minerais são absorvidos no intestino posterior pela parede do íleo posterior ou das papilas retais no reto, podendo a água ser absorvida pelo processo inteiramente ativo ou passivo, servindo de veiculo para íons e nutrientes, esse último necessita de um diferencial de concentração no interior e fora do intestino (CRUZ-LANDIM, 2009). Assim, o menor consumo de água pode estar associado à melhor disponibilidade dos nutrientes, não se fazendo necessário o uso de um carreador para a condução, já que possivelmente houvesse grande concentração de nutrientes no interior do intestino, possibilitando a passagem destes até o lúmen.

Na concentração de proteína total na hemolinfa, o teor do Dia 0 (Padrão) foi maior em relação a todos os tratamentos que receberam a alimentação. O T1 (sem adição de enzima) teve a menor concentração de proteína e a maior foi no T4 (0,09% de enzima), verificando que as abelhas conseguiram aproveitar melhor o alimento com o complexo enzimático, já que consumiram uma quantidade menor da dieta e água e mantiveram uma concentração maior em relação aos demais tratamentos.

Na média geral da interação entre as Famílias 1 e 2 (Tabela 3) pode-se verificar que não houve efeito significativo para o consumo de água, no entanto houve efeito para a dieta e para proteína total na hemolinfa. Nos resultados relacionados com a Família 1 observou-se menor consumo de água, de alimento e maior teor de proteína total na hemolinfa (P<0,001).

Tabela 3 – Média geral do consumo de água, dieta e do teor de proteína total da hemolinfa em μg/mL para a interação entre as duas Famílias. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

	Água (g)	Dieta (g)	Proteína Total (µg/mL)
Família 1	4,22 a	2,52 a	39,35 a
Família 2	4,67 a	3,04 b	29,28 b

Valores com letras diferentes na mesma coluna representam valores significativo para os parâmetros avaliados (P<0,001).

As colmeias se comportaram de maneira diferente para os parâmetros avaliados, podendo haver efeito da genética no aproveitamento dos nutrientes provenientes do processo de digestão para sintetização da proteína na hemolinfa. De Grandi-Hoffman et al (2013) relatam que em abelhas não se tem o conhecimento de como o genótipo pode afetar a absorção de nutrientes e digestão dos indivíduos.

Avaliando os parâmetros para cada família, não foi verificado efeito significativo (P<0,05) para o consumo de água.

Para o consumo médio da dieta foi observado uma diferença entre o T1 e T4 para a Família 1 (Figura 5); já na Família 2 verificou-se uma diferença entre o T1, T2 e T4 (Figura 6).

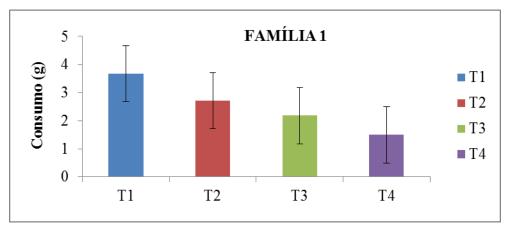


Figura 5 – Respostas dos indivíduos da Família 1 para o parâmetro consumo de dieta entre os tratamentos (média e desvio padrão). Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

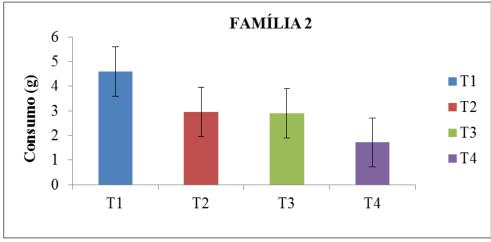


Figura 6 – Respostas dos indivíduos da Família 2 para o parâmetro consumo de dieta entre os tratamentos (média e desvio padrão). Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

O consumo é inversamente proporcional à adição da enzima, ou seja, de acordo com que se acrescenta o complexo enzimático na dieta ocorre uma diminuição no consumo pelas

abelhas. Foi possível notar essa diminuição no consumo nas duas famílias estudadas e, sabendo-se que a enzima melhorou o desempenho da dieta, já que os teores de proteína na hemolinfa foram maiores naquelas que tiveram menor consumo, pode-se afirmar que ocorreu uma melhor conversão alimentar para o tratamento T4 (0,09% de enzima) em comparação com a T1 (0% de enzima).

Para a Família 1 houve efeito significativo (P<0,001) entre o Padrão e todos os tratamentos (Figura 7) para a concentração de proteína total na hemolinfa, apontando o T4 como valor mais próximo do valor Padrão.

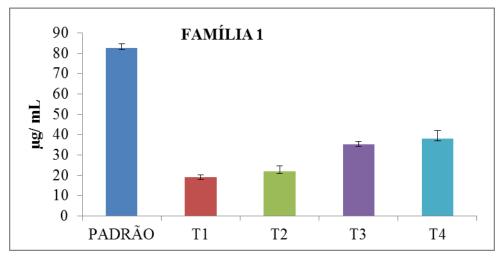


Figura 7 – Respostas dos indivíduos da Família 1 para o parâmetro proteína total na hemolinfa entre os tratamentos (média e desvio padrão). Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

Na Família 2 observou-se efeito significativo entre os tratamentos, na concentração de proteína total na hemolinfa, entre o Padrão, T01, T04 (P<0,001) (Figura 8).

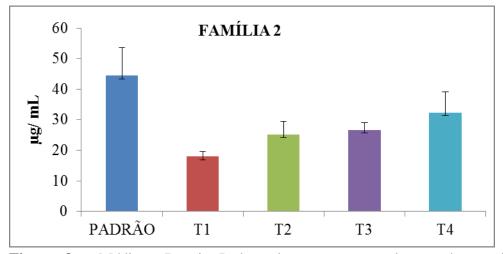


Figura 8 – Média e Desvio Padrão da concentração de proteína total na hemolinfa para a Família 2. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

Tanto para a Família 1 como a 2, o valor do Padrão (dia 0) foi mais elevado do que o encontrado por Turcatto (2011) que, analisando teores de proteína total na hemolinfa de abelhas no inverno e no verão em um período de 30 dias, obteve titulação menor no inverno e maior no verão, sendo que ambos apresentaram no Dia 0 valores menores em relação aos observados nessa pesquisa, mantendo a afirmação que o teor de proteína nas abelhas recémemergidas depende da qualidade do alimento fornecido no período larval. No período de análise foi observada a entrada de pólen nas duas colmeias estudadas, então possivelmente a abundância de alimento resultou em um alimento larval mais rico e consequentemente em teores elevados de proteína na hemolinfa de abelhas recém-emergidas.

Pinto (2010) formulou sete dietas com diferentes teores de proteína bruta e, quando comparou todas as dietas com o tratamento controle (isento de proteína), verificou que os tratamentos que apresentaram maior teor de proteína bruta nas dietas apresentaram uma maior concentração de proteína total na hemolinfa.

No presente estudo, então o menor teor de proteína no tratamento sem enzima (T01) pode ser entendido pela menor liberação dos aminoácidos no processo de digestão, resultando em uma menor concentração de proteína total na hemolinfa em relação aos demais tratamentos que receberam o complexo enzimático na dieta.

Avaliando a interação entre as Famílias x Tratamentos (Tabela 4), foi possível verificar que no Padrão e no T03 (0,06% de enzima) houve efeito significativo entre as duas famílias (P<0,001). Porém, os demais tratamentos se comportaram de forma semelhante estatisticamente.

Tabela 4 - Média do teor de proteína total da hemolinfa em μg/mL no 0 dia (padrão) e ao 6° dia de idade para as duas famílias. Laboratório de Abelhas – UFPB, 2014.

Proteína Total (µg/mL)	Padrão	T01	T02	T03	T04
Família 1	82,66 a	19,83 a	25,16 a	35,25 a	37,91 a
Família 2	44,41 b	17,91 a	21,83 a	26,58 b	32,33 a

Valores com letras diferentes na mesma coluna representam valores significativo para os parâmetros avaliados (P<0,001).

A diferença nos teores de proteína total encontrada no Dia 0 (Padrão) nas Famílias 1 e 2 pode estar relacionada ao conteúdo do alimento larval, que talvez seja diferente, ou em decorrência do fator genético das famílias, podendo ainda ter um fator combinado; como as análises ocorreram na mesma época do ano, o efeito do clima pode ter sido eliminado.

A análise do desempenho das abelhas submetidas a alimentos alternativos em laboratório mostra-se de grande eficiência. O teor de proteína total na hemolinfa em pequenos grupos de abelhas apresenta resultados com êxito em paralelo com colônias no campo (DE JONG et al, 2009). Esse é um método preciso para avaliar a eficiência de dietas ricas em proteína e tem como principal vantagem a não interferência de fatores externos (ALMEIDA, 2013).

Contudo, o uso de enzima na alimentação artificial se mostrou como uma ferramenta para manter os enxames no período de escassez alimenta, pois o efeito na abelha foi positivo, aumentando os teores de proteína total na hemolinfa e tendo um saldo de dias na longevidade das abelhas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O complexo enzimático Allzyme® SSF quando adicionado na dieta resultou em um saldo de três dias a mais de sobrevivência para a Família 1 e quatro dias a mais na Família 2.

De acordo com que foi sendo acrescentada a enzima no alimento, houve um menor consumo da dieta e água e um aumento na concentração de proteína total na hemolinfa das abelhas alimentadas em gaiolas experimentais.

As enzimas exógenas melhoram as características dos alimentos e apresentam efeito benéfico para as abelhas.

O T4 (dieta padrão + 0,09% de Enzima Allzyme® SSF) foi o melhor tratamento, pois apresentou o maior saldo de dias na análise de longevidade, o menor consumo da dieta e água e, um maior teor de proteína total na hemolinfa.

REFERÊNCIAS

ALVIM, N. C. ALVIM, N. C. O mel e suas características. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n. 3, 2004.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000, Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel.

BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; BRIGHENTI, C. R. G.; CARVALHO, S. M. Inversão da sacarose utilizando ácido cítrico e suco de limão para preparo de dieta energética de Apis mellifera LINNAEUS, 1758. **Ciência Agropecuária,** Lavras, v. 35, n. 2, p. 297-304, mar./abr, 2011.

CASTAGNINO, G. L.; ARBOITTE, M. Z.; LENGLER, S.; GARCIA, G. G.; MENEZES, F. G. Desenvolvimento de núcleos de Apis mellifera alimentados com suplemento aminoácido vitamínico, Promotor L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, mar-abr, 2006.

CASTAGNINO, G. L. B.; MESSAGE, D.; JUNIOR, P. M.; Fornecimento de substituto de pólen na redução da mortalidade de Apis mellifera L. causada pela Cria Ensacada Brasileira. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1838-1843, out, 2011.

COELHO, M. S.; SILVA, J. H. V.; OLIVEIRA, E. R. A.; ARAUJO, J. A.; DE LIMA, M. R. Alimentos convencionais e alternativos para abelhas. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.1, p.01-09, jan-mar 2008.

COSTA, F. M.; MIRANDA, S. B.; TOLEDO, V. A. A.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M. C. C.; CHIARI, W. C.; HASHIMOTO, J. H. Desenvolvimento de colônias de abelhas Apis mellifera africanizadas na região de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 101-108, 2007.

CRUZ-LANDIM, C. **Abelhas:** Morfologia e função de sistemas, 1 ed. São Paulo: UNESP, 2009.

DE GRANDI-HOFFMAN, G.; ECKHOLM, B.J.; HUANG, M.H. A comparison of bee bread made by Africanized and European honey bees (Apis mellifera) and its effects on hemolymph protein titers. **Apidologie,** v. 44, n.1, p.52-63, 2013.

DE JONG, D.; DA SILVA, E. J.; KEVAN, P. G.; ATKINSON, J. L. Pollen substitutes increase honey bee haemolymph protein levels as much as or more than does pollen. **Journal of Apicultural Research**, v. 48, n. 01, p. 34-37, 2009.

EMBRAPA. Alimentação e Manutenção em Apicultura Sustentável. Embrapa Clima Temperado. Disponível em: http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/folderes/folder-apicultura-sustentavel.pdf Acesso em: 04 jun. 2014.

GENTILINI, F. P.; DA SILVA, R. A. G.; NUNES, P. M.; GONÇALVES, F. M.; KUHN, C. C.; ANCIUTI, M. A.; RUTZ, F. Produtividade e resistência óssea de poedeiras suplementadas com allzyme® SSF nas dietas. **Archivos de Zootecnia** v. 58, n. 224, p. 645-653, 2008.

MARCHINI, L. C.; DOS REIS, V. D. A.; MORETI, A. C. C. C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas Apis mellifera (Hymenoptera:Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p. 949-953, mai-jun, 2006.

MENEZES, C.; BONETTI, A. M.; AMARAL, I. M. R.; KERR, W. E. Alimentação larval de Melipona (Hymenoptera, Apidae): estudo individual das células de cria. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 1, p. 70-75, Nov. 2007.

MODRO, A. F. H.; MESSAGE, D.; DA LUZ, C. F. P.; MEIRA NETO, J. A. A. Composição e qualidade de pólen apícola coletado em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.8, p.1057-1065, ago, 2007.

MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B. Glicídios no mel. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 516-525, 2001.

NAKASUGUI, L. F.; MESTI, R. C.; SILVA, B. L.; TOLEDO, V. A. A; FALCO, J. R. P.; TAKASUSKI, M. C. C. R. Análise da isoenzima lipase e proteínas totais em larvas de operárias nutrizes de Apis mellifera africanizadas suplementadas com ração. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18, 2009, Londrina. Anais... Londrina: UEL, 2009. p. 1-4.

NETO-VOLLET, A.; MAIA-SILVA, C.; MENEZES, C.; VENTURIERI, G. C.; DE JONG, D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Dietas protéicas para abelhas sem ferrão. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 9, 2010, Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto: FUNPEC, 2010. p. 121-129.

PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J.R.P. (Org.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole & CNPQ, 1991. p. 9-65.

PEREIRA, F. M. Desenvolvimento de ração proteica para abelhas Apis mellifera utilizando produtos regionais do nordeste brasileiro. 2005. 180 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

- PEREIRA, F. M.; FREITAS, B. M.; NETO, J. M. V.; LOPES, M. T. R.; BARBOSA, A. L.; CAMARGO, R. C. R. Desenvolvimento de colônias de abelhas com diferentes alimentos proteicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.1-7, jan. 2006.
- PERLIN, T. A. Valor nutricional de farinha de soja e mel, farinha láctea e açúcar em colméias de abelhas (Apis mellifera) na produção de geléia real. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 345-347, 1999.
- PINTO, M. R. Alimentação de *Apis mellifera* africanizadas: Relação com a fisiologia, produção, sanidade e segurança alimentar. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KLEINERT-GIOVANNINI, A. Ecologia nutricional de abelhas sociais. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J.R.P. (Org.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole & CNPQ, 1991. p. 225-252.
- SCHAFASCHEK, T.P.; PADILHA, M.T.S.; SANTOS, I.I; PADILHA, J.C.F.; BRAGA, F.E. Efeito da suplementação alimentar sobre as características produtivas e reprodutivas de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. **Biotemas**, v.21, p.99-104, 2008.
- SEREIA, M. J. Suplementos proteicos para abelhas africanizadas submetidas à produção de geleia real. 2009. 92 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.
- SEREIA, M. J.; TOLEDO, V. A. A.; FURLAN, A. C.; FAQUINELLO, P.; MAIA, F. M. C.; WIELEWSKI, P. Alternative sources of supplements for Africanized honeybees submitted to royal jelly production. **Acta Scientiarum. Animal Sciences,** Maringá, v.35, n.2, p. 165-171, Abr-Jun, 2013.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM SAS. **System for Microsoft Windows**: release 8.2. Cary: 2001. 1 CD-ROM.
- TERRA, W. R. Digestão do alimento e suas implicações na biologia dos insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J.R.P. (Org.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole & CNPQ, 1991. p. 67-99.
- TURCATTO, A. P. Desenvolvimento e análise do efeito de dietas protéicas como suplementação nutricional para abelhas Apis mellifera. 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

ANEXO

Anexo 1 – Média do consumo de água e dieta para cada família

	Fam	Família 1		Família 2	
	Água (g)	Dieta (g)	Água (g)	Dieta (g)	
T1	4,76 a	3,67 a	6,22 a	4,60 a	
T2	3,80 a	2,71 ab	4,34 a	2,95 b	
T3	4,52 a	2,18 ab	4,40 a	2,89 bc	
T4	3,82 a	1,50 b	3,71 a	1,71 c	

Valores com letras diferentes na mesma coluna representam valores significativo para os parâmetros avaliados (P<0,001)

Anexo 2 – Média do teor de proteínas totais da hemolinfa em $\mu g/mL$ no 0 dia (padrão) e ao 6° dia de idade para cada família

Proteína Total (µg/mL)	Família 1	Família 2
Padrão	82,66 a	44,41 a
T1	19,03 c	17,91 c
T2	21,83 c	25,16 cb
T3	35,25 b	26,58 cb
T4	37,91 b	32,33 b

Valores com letras diferentes na mesma coluna representam valores significativo para os parâmetros avaliados (P<0,001).