

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta Tese
será disponibilizado somente a partir
de 11/12/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NO PERFIL PROTEÔMICO E
METALÔMICO DA GELEIA REAL E NO TRANSCRIPTOMA DE ABELHAS**
Apis mellifera L.

MARCELO POLIZEL CAMILLI

BOTUCATU – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO NO PERFIL PROTEÔMICO E
METALÔMICO DA GELEIA REAL E NO TRANSCRIPTOMA DE ABELHAS**
Apis mellifera L.

MARCELO POLIZEL CAMILLI

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

Tese apresentada ao Programa de
PósGraduação em Zootecnia como
parte das exigências obtenção do
título de Doutor em Zootecnia

BOTUCATU – SP

Junho – 2021

C183e	Camilli, Marcelo Polizel Efeito da suplementação de zinco no perfil proteômico e metalômico da geleia real e no transcriptoma de abelhas <i>Apis mellifera</i> / Marcelo Polizel Camilli. -- Botucatu, 2021 75 p. : il., tabs., fotos Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi Coorientador: Samir Moura Kadri 1. Abelha. 2. Mineral. 3. Nutrição. 4. Apicultura. 5. Geleia real. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



"Nem tudo que reluz é ouro,
Nem todos os que vagueiam estão perdidos"

J. R. R. Tolkien

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marta Rita Polizel Camilli e Marcos Antonio Camilli (*in memorian*) pela criação, educação, carinho e amor incondicional. Por todo o suporte que me deram para alcançar meus objetivos pessoais e profissionais.

Ao meu avô Antonio Luis Camilli, pela nossa amizade e por me despertar o interesse pelo mundo das abelhas.

A minha avó Cecília Souza e Silva Camilli por me ensinar a amar todo e qualquer ser vivo.

Ao meu irmão Marco Antonio Camilli por toda nossa amizade e cumplicidade.

A minha namorada Elisa Pioltine por estar ao meu lado em todos os momentos e incentivar minhas decisões.

A minha sobrinha Alice Nakayama Camilli por nos trazer esperança e alegria em tempos de pandemia,

Que esta seja uma pequena retribuição por tudo o que me proporcionam.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu.

Ao meu orientador Professor Doutor Ricardo de Oliveira Orsi, pela oportunidade de orientação, paciência e confiança depositada.

Ao meu coorientador Doutor Samir Moura Kadri, por toda a colaboração, dedicação nesta pesquisa e pelo companheirismo ao longo desta etapa.

Ao Professor Doutor Paulo Eduardo Martins Ribolla, por disponibilizar seu laboratório e pela assistência nas análises.

Ao Professor Doutor Pedro Magalhães Padilha, por disponibilizar seu laboratório e pela assistência nas análises.

Ao Doutor José Cavalcante Souza Vieira, por toda a colaboração e dedicação nas análises bioquímicas.

Aos amigos do NECTAR: Daniel, Samir, Maurice, Gabriel, Juliana, Aime, Alex, Wellington, Thais e Rodrigo pela colaboração e convivência diária.

Ao funcionário e amigo Maurício por toda a colaboração e parceria.

BIBLIOGRAFIA DO AUTOR

Marcelo Polizel Camilli nasceu na cidade de Bocaina – SP no dia 12 de setembro de 1991. Mudou-se para Dois Córregos aos sete meses de idade com sua mãe Marta Rita Polizel Camilli e seu irmão Marco Antonio Polizel Camilli.

Aos doze anos de idade começou a acompanhar seu avô Antonio Luis Camilli em seu apiário, despertando seu interesse no mundo das abelhas. Durante a adolescência sempre teve contato com a natureza, acampando e pescando com seus amigos, o que fez com que acendesse uma verdadeira paixão pelos seres vivos e escolhesse sua futura carreira profissional.

Em 2011, mudou-se para Botucatu – SP após ingressar no curso de Ciências Biológicas do Instituto de Biociências (IB) da Universidade Estadual Paulista (UNESP). No ano de 2014 teve contato com a sala de aula, tornando-se professor eventual da Escola Estadual Profa. Sophia Gabriel de Oliveira, por dois anos.

Em Julho de 2016 se interessou pelas linhas de pesquisa do Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional (NECTAR) da UNESP Botucatu e realizou um estágio no setor de apicultura. Graduiu-se em Ciências Biológicas pelo IB, UNESP Botucatu em Dezembro de 2016 e ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da FMVZ, UNESP – Botucatu sob orientação do Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi. Seu trabalho de mestrado teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação proteica no desenvolvimento das glândulas mandibulares de abelhas *Apis mellifera*.

Em janeiro de 2019 ingressou no doutorado sob orientação do Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi, continuando seus estudos na área de nutrição de abelhas *Apis mellifera*.

RESUMO GERAL

As abelhas *A. mellifera* possuem necessidades específicas de nutrientes para que possam desenvolver todo o seu potencial produtivo e reprodutivo, visando a sobrevivência e manutenção da colônia. Neste projeto avaliamos duas fontes de zinco (orgânico e inorgânico), em diferentes concentrações e seus reflexos no perfil metaloproteômico da geleia real e no transcriptoma de abelhas com 6 dias de idade. Foram utilizadas 35 colônias de abelhas *A. mellifera*, distribuídas aleatoriamente nos seguintes tratamentos (05 colmeias por tratamento): controle: xarope de açúcar sem suplementação de zinco; ZNI25: xarope de açúcar suplementado com 25 ppm de Zn inorgânico; ZNI50: xarope de açúcar suplementado com 50 ppm de Zn inorgânico; ZNI75: xarope de açúcar suplementado com 75 ppm de Zn inorgânico; ZNO25: xarope de açúcar suplementado com 25 ppm de Zn orgânico; ZNO50: xarope de açúcar suplementado com 50 ppm de Zn orgânico; ZNO75: xarope de açúcar suplementado com 75 ppm de Zn orgânico. A fonte de zinco inorgânico foi o sulfato de zinco monohidratado (37,4% de zinco) e a fonte orgânica de zinco metionina (16% de zinco), diluída em xarope de açúcar. Os níveis reais de zinco foram determinados por espectrometria de absorção atômica (FAAS). As abelhas *A. mellifera* recém-emergidas foram marcadas ao final de 30 dias de suplementação com caneta atóxica, na região pronoto e suas coletas para análise do transcriptoma foram realizadas aos 6 dias de idade em sua fase de nutriz, com exatamente 36 dias de experimento. Para a análise do metaloproteoma da geleia real, foi induzido a produção de geleia real pelo método de transferência de larvas. Assim que coletada, o teor proteico das amostras era mensurado por espectrômetro de UV visível, as proteínas eram separadas pela eletroforese bidimensional (2D page) e as metaloproteínas separadas por espectrômetro de absorção atômica. Todas as funções biológicas associadas as metaloproteínas que continham zinco foram identificados por espectrômetro de absorção atômica. Nossos resultados sugerem que as menores concentrações de zinco orgânico (ZNO 25) alteram o maior número de expressão diferencial de proteínas da geleia real e também aumentam a concentração proteica das amostras. Em relação as análises do transcriptoma, nossos resultados sugerem que os maiores níveis de zinco inorgânico (ZNI 75) alteram a maior via de genes relacionados a importantes processos fisiológicos, entretanto, somente as menores concentrações de zinco de fonte orgânica (ZNO25) apresentaram grande aumento de genes diferencialmente expressos quando relacionados ao grupo controle (ZN0).

Palavras-chave: Abelhas / minerais / nutrição/ proteômica/ transcriptoma /

ABSTRACT

A. mellifera bees have specific nutrient needs so that they can develop their full productive and reproductive potential, aiming at colony survival and maintenance. In this project, we evaluated two sources of zinc (organic and inorganic), at different concentrations and their effects on the metalloproteomic profile of royal jelly and the transcriptome of 6-day-old bees. Thirty-five colonies of *A. mellifera* bees were used, randomly distributed in the following treatments (05 hives per treatment): control: sugar syrup without zinc supplementation; ZNI25: sugar syrup supplemented with 25 ppm inorganic Zn; ZNI50: sugar syrup supplemented with 50 ppm inorganic Zn; ZNI75: sugar syrup supplemented with 75 ppm inorganic Zn; ZNO25: sugar syrup supplemented with 25 ppm organic Zn; ZNO50: sugar syrup supplemented with 50 ppm organic Zn; ZNO75: Sugar syrup supplemented with 75 ppm organic Zn. The inorganic zinc source was zinc sulfate monohydrate (37.4% zinc) and the organic zinc source methionine (16% zinc), diluted in sugar syrup. Actual zinc levels were determined by atomic absorption spectrometry (FAAS).

The newly emerged *A. mellifera* bees were tagged at the end of 30 days of supplementation with a non-toxic pen, in the pronotum region, and their collections for transcriptome analysis were carried out at 6 days of age in their nursing phase, with exactly 36 days of the experiment. . For the analysis of the royal jelly metalloproteome, royal jelly production was induced by the larval transfer method. Once collected, the protein content of the samples was measured by a visible UV spectrometer, the proteins were separated by two-dimensional electrophoresis (2D page) and the metalloproteins were separated by an atomic absorption spectrometer. All biological functions associated with zinc-containing metalloproteins were identified by an atomic absorption spectrometer. Our results suggest that the lower concentrations of organic zinc (ZNO 25) alter the greater number of differential expressions of royal jelly proteins and also increase the protein concentration of the samples. Regarding the transcriptome analyses, our results suggest that the highest levels of inorganic zinc (ZNI 75) alter the largest pathway of genes related to important physiological processes, however, only the lowest concentrations of zinc from an organic source (ZNO25) showed a large increase of differentially expressed genes when related to the control group (ZNO)

Keywords: Bees / minerals / nutrition / proteomics / transcriptome /

Sumário

CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
Histórico da apicultura no mundo	2
Características gerais das abelhas <i>Apis mellifera</i>	4
Importância global	5
Geleira real	6
Alimentação das abelhas <i>Apis mellifera</i>	7
Exigência nutricional	7
Zinco	8
Proteômica	9
Transcriptoma	10
Referências	12
CAPÍTULO 2	19
Title	20
Abstract	21
Material and methods	22
Results	26
Discussion	28
References	30
Supplementary material	35
CAPÍTULO 3	37
Title	38
Abstract	38
Background	39
Results and discussion	40
Conclusions	53
Material and methods	54
References	57
CAPÍTULO 4	61
Implicações	62

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1. Total royal jelly protein concentration (g L⁻¹)26

Tabela 2. Differential royal jelly metalloprotein expression induced by dietary supplementation with differential quantities of organic zinc.....28

Capítulo 3

Tabela 1. Total royal jelly protein concentration (g L⁻¹)40

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Pintura rupestre (relação do homem com as abelhas).....	2
Figura 2. Apicultura no Egito Antigo.....	3
Figura 3. Castas encontradas em uma colônia de <i>Apis mellifera</i>	5

Capítulo 2

Figura 1 Number of royal jelly zinc-containing protein spots.....	26
Figura 2. Figure 2 Representative image of polyacrylamide gel protein spots after 2D-PAGE.....	27
Figura 3. Figure 3 Metalloprotein GO Annotations: biological process (a) and molecular function b).....	27

Capítulo 3

Figura 1 DEGs between experimental groups (ZnI25,ZnI50 and ZnI75) compared to control group Zn0.....	41
Figura 2 DEGs between experimental groups (ZnO25, ZnO50 and ZnO75) compared to control group Zn0.....	42
Figura 3 Venn diagrams of DEGs between experimental groups supplemented with inorganic and organic source of zinc at each concentration of zinc.....	43
Figura 4 Gene Ontology analysis of both experimental group's intersection.....	45
Figura 5 Gene Ontology analysis of the experimental groups supplemented with inorganic source of zinc.....	47
Figura 6 Gene Ontology analysis of the experimental groups supplemented with organic source of zinc.....	49
Figura 7 Clustering analysis of the DEGs between experimental groups supplemented with inorganic source of zinc and control group.....	51

Fig 8: Clustering analysis of the DEGs between experimental groups supplemented with organic source of zinc and control groups.....	52
--	----

5.0 Referências

- ALBERTS, B. et al. Molecular biology of the cell. 4. ed. **Garland Science**, New York 1616 p, 2002.
- AMDAM, G.V.; PAGE JR., R.E. The developmental genetics and physiology of the honeybees societies. **Animal Behavior**, Washington, v. 79, n. 5, p. 973-980, 2010.
- CAMPANA, J. B. & MOELLER E. F. Honey Bees Preference for and Nutritive Value of Pollen from Five Plant Sources. **Journal of Economic Entomology**, New York, v.70, p.39-41, 1977.
- COELHO, M. S.; DA SILVA, J. H. V.; OLIVEIRA, E. R.; ARAÚJO, J. A.; LIMA, M. R. Alimentos convencionais e alternativos para abelhas. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 1, 2008
- COUTO RHN; COUTO LA. Apicultura: Manejo e Produtos. **3ª ed. Jabotical** (SP): FUNEP, 2006.
- CRAILSHEIM, K. Pollen consumption and utilization in worker honeybee (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. **Journal of Insect Physiology**. Kidlington, v. 38, n. 6, p. 409-419, 1992.
- CRAILSHEIM, K. The flow of jelly within a honeybee colony. **Journal of Comparative Physiology**, New York, v. 162, p. 681-689, 1992.
- CRAILSHEIM, K. Trophallactic interactions in adult honeybee (*Apis mellifera* L). **Apidologie**, Paris, v. 29, n. 1-2, p. 97-112, 1998.
- CRANE, E. **The world history of beekeeping and honey hunting**. London: Taylor& Francis, London, v.199. p. 680, 1999.
- CUNHA, J. Mortandade disseminada das abelhas devido ao uso de agrotóxicos. Brasília, DF:mCâmara de Deputados, 2013. Disponível em: <http://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/cmads/audiencias-publicas/audiencia-publica-2013/4-7-2013->

[mortandade-disseminada-das-abelhas-devido-ao-uso-de-agrotoxicos/apresentacoes.](#)

[Acesso em 12](#) dez 2020.

DANFORTH, B. Bees – a primer. **Current Biology**, Maryland, v.17, n. 5, p. R156-R161, 2007.

DE JONG, D. Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success. **Bee World**, v. 77, n. 2, p. 67-70, 1996.

DE PAULA ARAÚJO, Wellington Luiz et al. Supplementation with an Inorganic Iron Source Modulates the Metalloproteomic Profile of the Royal Jelly Produced by *Apis mellifera* L. **Biological trace element research**, v. 195, n. 2, p. 648-657, 2020.

Della Valle, G., & Babiss, L. E. Repression of adenovirus E1A enhancer activity by a novel zinc finger-containing DNA-binding protein related to the GLI-Kruppel protein. **The EMBO journal**, v.12(13), p.4985-4992, 1993.

Doolittle, G. M. Mr. G. M. Doolittle's queen rearing methods. **American Bee Journal**, v.39(28), p. 435-436, 1899.

ESTOUP, A.; SOLIGNAC, M.; COURTNET, J-M. Precise assessment of the number of patriline and of genetic relatedness in honey bee colonies. **Proceedings of the Royal Society B**, London, v.258, p. 1-7, 1994.

EYER, M.; NEUMANN, P.; DIETEMANN, V. A look into the cell: honey storage in honey bees, *Apis mellifera*. **PloS one**, v. 11, n. 8, p. e0161059, 2016.

FAA, G.; NURCHI, V.M.; RAVARINO, A.; FANNI, D.; NEMOLATO, S.; GEROSA, C.; EYKEN, P.V.; GEBOES, K. Zinc in gastrointestinal and liver disease. **Coordination Chemistry Reviews**, v.252, p.1257-1269, 2008.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations. The state of the world's land and water resources for food and agriculture. Roma: FAO. P. 50, 2017.

GARCIA, J.S.; MAGALHÃES, C.S.; ARRUDA, M.A.Z. Trends in metal-binding and metalloprotein analysis. **Talanta**, v.69, p.1-15, 2006.

GARIBALDI, L.A. et al. From research to action: enhancing crop yield through wild pollinators. **Front Ecology Environmental**, v.12, p.439–447, 2014.

GONÇALVES, L. S. Africanized honey bee: introduction, adaptation and benefits. In: INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS. **Proceedings**. Durban, v.31. p.1-3. 2006.

GOULSON, D. et al. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, p. 1255957, 2015.

GREENBAUM, D.; LUSCOMB, N.M.; JANSEN, R. et al. Interrelating different types of genomic data, from proteome to secretome: 'Oming in on function. **Genome Res.**, v.11, p. 1463-1468, 2001.

GUPTA, R. K. Taxonomy and distribution of different honeybee species. **Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security**. Netherlands: Springer, p.63-103, 2014.

HAYDAK, M.H. Honey bee nutrition. **Annual Review of Entomology**, v. 15, p. 143-146, 1970.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019.

KLASING, K. C. Comparative avian nutrition. **CAB International**, Wallingford. p. 350, 1998.

KLEIN, A. M. et al., Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of The Royal Society B**, London, v. 274. P. 303-313, 2007.

LE CONTE, Y.; ALAUX, C.; MARTIN, J-F., HARBO, J.R.; WARRIS, J.W.; DANTEC, C.; SÉVERAC, D.; CROS-ARTEIL, S.; NAVAJAS, M. Social immunity in honeybees (*Apis mellifera*): transcriptome analysis of varroa-hygienic behaviour. **Insect Molecular Biology**, v.20, p.339-408, 2011.

LEBUHN, G. et al., Detecting Insect Pollinator Declines on Regional and Global Scales. **Conservation Biology**, Malden, v27, p113-120, 2012.

MAJTÁN, J.; KOVÁČOVÁ, E.; BÍLIKOVÁ, K.; ŠIMÚTH, J. The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1–major honeybee royal jelly protein–on TNF α release. **International immunopharmacology**, v. 6, n. 2, p. 269-278, 2006.

MARCHINI, L. C.; 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**, São Paulo, v.36, p.949-953, 2006.

MARET, W. Exploring the zinc proteome. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 1, p. 15-19, 2004

MELLO, M.H.S.H.; SILVA, E.A.; NATAL, D. Abelhas africanizadas em área metropolitana do Brasil: abrigos e influências climáticas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.37, n.2, p.237-241, 2003.

MELO, I.L.P.D.; FREITAS, A.S.D.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.D. Relação entre a composição nutricional e a origem floral de pólen apícola desidratado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n.3, p.346-353, 2009.

MICHENER, C. D. The social behavior of the bees: a comparative study. Cambridge: **Harvard University Press**, New York, 404 p, 1974.

MORAES, Caroline S.; OLIVEIRA JUNIOR, Francisco OR; MASSON, Gustavo. Métodos experimentais no estudo de proteínas. In: **Métodos experimentais no estudo de proteínas**. p. 83-83, 2013.

MORETI, A. C. C. C. **PÓLEN: Alimento protéico para as abelhas: Complemento alimentar para o homem**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/Polen/index.htm>. Acesso em: 23 de dezembro de 2020.

NIU, D.; ZHENG, H.; CORONA, M.; LU, Y.; CHEN, X.; CAO, L.; SOHR, A.; HU, F. Transcriptome comparison between inactivated and activated ovaries of the honey bee *Apis mellifera* L. **Insect Molecular Biology**, v.23, p.668-681, 2014.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, Medellin, v.120, n.3, p.321-326, 2011.

PAGE JR., R.; PENG, C. Y. S. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. **Experimental Gerontology**, Philadelphia, v.36, n.4, p. 695-711, 2001.

PASSOS, G. **Transcriptomics in Health and Disease**. 1ª Edição. Switzerland: Springer International Publishing, 2014.

PAUDEL, Yagya Prasad et al. Honey bees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: Current status, impacts, and potential drivers of decline. **Journal of Agricultural Science**, v. 7, n. 6, p. 93, 2015.

PINTO, F.A. et al. Nutritional and temporal effects on hypopharyngeal glands of africanized honeybees (Hymenoptera – Apidae). **Sociobiology**, Pernambuco, v. 59, n.2, p.447-456. 2012.

QU, N., JIANG, J., SUN, L., LAI, C., SUN, L., WU, X. Proteomic characterization of royal jelly proteins in Chinese (*Apis cerana cerana*) and European (*Apis mellifera*) honeybees. **Biochemistry** (Moscow), v. 73, n. 6, p. 676-680, 2008

RAMADAN, M. F.; AL-GHAMDI, A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 39-52, 2012.

ROMANOWSKI, S.M.; MANGRICH, A.S.; NEVES, A. Síntese e caracterização de novos compostos de coordenação de cobre (II) com ligantes não simétricos N,Odoadores: contribuições para o sítio ativo da galactose oxidase. **Química Nova**, v.24, p.592-598, 2001.

RYABOV, E.V.; WOOD, G.R.; FANNON, J.M.; MOORE, J.D.; BULL, J.C.; CHANDLER, D.; MEAD, A.; BURROUGHS, N.; EVANS, D.J. A virulent strain of deformed wing virus (DWV) of honeybees (*Apis mellifera*) prevails after *Varroa destructor*-mediated, or in vitro, transmission. **Plos One**, v.10, p.1-21, 2014.

SCHMITZOVA J.; KLAUDINY J.; ALBERT S.; SCHRODER W.; SCHRECKENGOST W.; HANES J.; JUDOVA J.; SIMUTH J. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 54, n. 9, p. 1020-1030, 1998.

SEELEY, T. D. The wisdom of the hive: the social physiology of honey bee colonies. **London: Harvard University Press**, London, p. 295, 1995.

SHI, W; CHANCE, M.R. Metalloproteomics: forward and reverse approaches in metalloprotein structural and functional characterization. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.15, n.1, p. 144-148, 2011.

SILVA, F.A.; CAVECCI, B.; BALDASSINI, W.A.; LIMA, P.M.; MORAES, P.M.; ROLDAN, P.S.; PADILHA, C.C.F.; PADILHA, P.M. Selenium fractionatio from plasm, muscle and liver of Nile tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Food Measurement and Characterization**, v.7, p.158–165, 2013.

ŠIMÚTH, J.; BÍLIKOVÁ, K.; KOVÁČOVÁ, E.; KUZMOVÁ, Z.; SCHRODER, W. Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: physiologically active royal jelly protein stimulating TNF- α release is a regular component of honey. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 8, p. 2154-2158, 2004.

STORT, A.C.; GONÇALVES, L.S. A national survey of managed honey bee 2012-2013 annual colony losses in the USA: results from the bee informed partnership. **Journal of Apiculture Research**, Abingdon, v53, n.1, p.1-18,2014.

WANG, Z.L.; LIU, T.T.; HUANG, Z.Y.; WU, X.B.; YAN, W.Y.; ZENG, Z.J. Transcriptome analysis of the asian honey bee *Apis cerana cerana*. **Plos One**, v.7, p.1-11, 2012.

WESTERMEIER, Reiner; NAVEN, Tom. **Proteomics in practice**. Wiley-vch, 2002

WIESE, H. **Apicultura Novos Tempos**, 2ª Ed. – Guaíba: Agrolivros, p.17, 2005.

WINSTON, M.L The biology and management of africanized honey bees. **Annual Reviews in Entomology**, v. 37, p.173-93, 1992.

WINSTON, M. L. A Biologia da Abelha. **Porto Alegre: Magister**, Porto Alegre, p.276, 2003.

ZALUSKI, Rodrigo et al. Modification of the head proteome of nurse honeybees (*Apis mellifera*) exposed to field-relevant doses of pesticides. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

Zhang, G.E., Zhang, W., Qui, X., & Baohua, X.. Zinc nutrition increases the antioxidant defenses of honey bees. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 156(3), p. 201-210, 2015.

ZHENG, H. Q.; HU, F. L.; DIETEMANN, V. Changes in composition of Royal jelly harvested at different times: consequences for quality Standards. **Apidologie**, 2010.