

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NO DESENVOLVIMENTO DAS
GLÂNDULAS MANDIBULARES EM ABELHAS *Apis mellifera* L.**

MARCELO POLIZEL CAMILLI

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Zootecnia como
parte dos requisitos para defesa de
mestrado.

BOTUCATU – SP

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NO DESENVOLVIMENTO DAS
GLÂNDULAS MANDIBULARES EM ABELHAS *Apis mellifera* L.**

MARCELO POLIZEL CAMILLI

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia como
parte dos requisitos para defesa de
mestrado.

BOTUCATU – SP

Janeiro – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Camilli, Marcelo Polizel, 1991-
C183e Efeito da suplementação proteica no desenvolvimento das glândulas mandibulares em abelhas *Apis mellifera* L. / Marcelo Polizel Camilli. - Botucatu: [s.n.], 2019
ix, 32 f.: fots. color., grafs. color., ils. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2019
Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi
Inclui bibliografia

1. Abelha - Criação. 2. Abelha - Nutrição. 3. Abelha - Morfologia. 4. Geleia real. 5. Suplementação alimentar. I. Orsi, Ricardo de Oliveira. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

“Há um prazer nas florestas desconhecidas;
Um entusiasmo na costa solitária;
Uma sociedade onde ninguém penetra;
Pelo mar profundo e música em seu rugir;
Amo não menos o homem, mas mais a natureza.”
Lord Byron.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marta Rita Polizel Camilli e Marcos Antonio Camilli (in memoriam) 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.

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 Professor Doutor Luis Antonio Justulin Junior, por disponibilizar seu laboratório e pela assistência nas análises.

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.

BIOGRAFIA 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. Graduou-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*.

Sumário

Capítulo 1.....	1
Considerações iniciais.....	2
Abelhas <i>Apis mellifera</i>	2
Histórico da apicultura no brasil.....	3
Histórico da apicultura no brasil.....	4
Importância global.....	5
Geleia real e glândulas mandibulares.....	5
Alimentação das abelhas <i>A. mellifera</i>	7
Referências.....	9
Capítulo 2	16
Resumo	17
Material e métodos	19
Resultados.....	22
Discussão.....	26
Conclusão	28
Referências.....	28
Capítulo 3	31
Implicações.....	32

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Dietas proteicas que foram fornecidas a abelhas <i>A. mellifera</i>	19
Tabela 2. Análise bromatológica das dietas com diferentes níveis proteicos.....	20
Tabela 3. Consumo das dietas.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Castas encontradas em uma colônia de *Apis mellifera*.....2

Figura 2. Glândula mandibular e hipofaríngeana de *Apis mellifera*.....6

Capítulo 2

Figura 1. Área do reservatório da glândula mandibular (μm^2) em função da suplementação proteica (0, 23, 25 e 27% de proteína bruta) dos enxames experimentais. * Diferença estatística em relação ao controle pelo teste Tukey. ($P < 0,05$).....23

Figura 2. Fotomicrografia representativa da média de área da glândula mandibular de abelhas *A. mellifera*. P0: controle; P23: 23% de PB; P25: 25 % de PB e P27: 27% de PB. A cor preta representa a área da glândula.....24

Figura 3. Altura da célula secretora da glândula mandibular (μm) em função da suplementação proteica (0, 23, 25 e 27% de proteína bruta) dos enxames experimentais. * Difere estatisticamente em relação ao controle pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). # Difere estatisticamente em relação aos demais grupos experimentais pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).....24

Figura 4. Fotomicrografias representativas da altura da célula secretora (μm) da glândula mandibular de abelhas *A. mellifera*. P0: controle P23: 23% de PB; P25: 25 % de PB e 27: 27% de PB.....25

Figura 5. A. Regressão polinomial referente à área da glândula mandibular (μm^2).
B. Regressão polinomial referente à altura da célula secretora (μm).....26

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Abelhas *Apis mellifera*

1.1 Características gerais

As abelhas *Apis mellifera*, 1758 são insetos representantes da ordem Hymenoptera, da família Apidae (WINSTON, 2003; GUPTA 2014), eussociais, representando uma sociedade complexa com uma comunicação extremamente sofisticada.

As colônias de abelhas *A. mellifera* possuem milhares de indivíduos com dimorfismo sexual, funções bem definidas e se dividem em três castas: rainha, zangões e operárias (figura 1). A rainha é a única fêmea fértil da colônia, vive em média três anos em enxames livres de uma estrutura, é responsável pela postura de ovos e produz diversos feromônios que garantem a harmonia da colônia (SEELEY, 1995). A cópula ocorre apenas uma vez em sua vida, onde ela copula em média com 12 zangões em voo e preenche sua espermateca com espermatozoides para a postura de ovos fertilizados até o final de sua vida (ESTOUP et al., 1994).



Figura 1. Castas encontradas em uma colônia de *A. mellifera*. Adaptado de <https://www.britannica.com/animal/drone-bee>.

O número de zangões na colmeia varia de dependendo de fatores climáticos e recursos disponíveis, podendo chegar a 400 indivíduos e vivem até 80 dias. Os zangões nascem de óvulos não fertilizados e não apresentam outra

função a não ser de fecundação da rainha. Após a cópula perdem seu órgão reprodutor e morrem por perda de hemolinfa (PAGE e PENG 2001).

A casta mais numerosa em uma colônia é de abelhas operárias; vivem cerca de seis semanas e são responsáveis pela maior parte das tarefas realizadas na colônia, de acordo com sua idade fisiológica (polietismo etário). Nos primeiros três dias de vida as abelhas operárias realizam a limpeza interna da colmeia. Do 4º ao 12º são denominadas nutrizes, produzem geleia real e alimentam as larvas e rainha, do 13º ao 18º dia produzem cera, do 19º ao 20º protegem a colmeia de invasores e a partir do 21º dia as abelhas operárias vão ao campo coletar recursos como pólen, néctar, resina e água (SEELEY, 1995; AMDAM; PAGE, 2010).

1.2 Histórico da apicultura no mundo

As abelhas *A. mellifera* surgiram há aproximadamente 100 milhões de anos, no período Cretáceo, em que as plantas angiospermas e algumas espécies de vespas passavam por um processo de co-evolução e, por pressões ambientais, foram selecionados os indivíduos que se alimentavam exclusivamente de néctar e pólen, dando origem as primeiras espécies de abelhas (DANFORTH, 2007; GUPTA, 2014).

Os seres humanos começaram a se relacionar com as abelhas a aproximadamente 15.000 anos a.C., no período paleolítico. Pinturas rupestres ilustram a rusticidade da prática da extração de mel. Após muitos anos da extração de mel predatória o ser humano começou a criar abelhas em colmeias fabricadas com palha, argila e madeira, agrupando-as de maneira a facilitar o manejo, surgindo os primeiros apiários. Os registros dessas criações datam de 1450 a.C. na região do Egito Antigo (CRANE, 1999).

Com o passar dos anos, a apicultura se desenvolveu de maneira racional, buscando o bem-estar animal, produtividade e longevidade da colônia. O marco da apicultura racional foi em 1851, quando o norte-americano Lorenzo Lorain Langstroth que padronizou a colmeia de madeira com dimensões apropriadas e quadros móveis, surgindo o “espaço abelha”, uma lacuna com medidas de 4,7 a 9,6 mm entre os quadros, facilitando a locomoção das abelhas e organizando a

construção de favos, o que se tornou o padrão da apicultura universal (CRANE, 1999).

A apicultura racional permite o manejo racional com a colmeia de abelhas *A. mellifera*, permitindo a exploração de recursos como o pólen, mel, própolis, apitoxina e geleia real sem que abale a estrutura e harmonia do enxame (CUNHA, 2013).

1.3 Histórico da apicultura no Brasil

No Brasil, a apicultura se iniciou em 1839 quando o imperador Dom Pedro II autorizou o Padre Antonio Carneiro a trazer de Portugal as colônias de abelhas europeias *A. mellifera mellifera*. O objetivo inicial era fornecer mel para a corte real e produzir cera para a fabricação de velas. Outras subespécies foram introduzidas no Brasil durante o final do século XIX: as *A. mellifera ligustica*, *A. mellifera carnica* e *A. mellifera caucásica*, disseminando a espécie por todo o território nacional (WIESE, 2005).

Devido ao clima tropical as abelhas europeias apresentaram uma produtividade relativamente baixa e somente na década de 1950 começaram a buscar estratégias para o aumento da produtividade dos enxames brasileiros e se atentaram para as abelhas africanas, descritas como grandes produtoras de mel e resistentes ao clima tropical. Seis anos depois, o geneticista Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr visitou a África do Sul para adquirir as abelhas africanas *A. mellifera scutellata* e introduzi-las no Brasil (GONÇALVES, 2006). Porém as abelhas africanas apresentavam comportamento defensivo elevado, o que não era interessante para a produção comercial brasileira e o novo objetivo foi de cruzar as abelhas africanas com as europeias a fim de criar um híbrido com alta produção, alta rusticidade e baixa defensividade (STORT e GONÇASLVES, 1994).

No ano de 1957, os zangões africanos escaparam e se acasalaram de forma natural com as rainhas de abelhas europeias dando origem ao híbrido *A. mellifera* africanizada. O híbrido possuía facilidade de enxameação e capacidade de voar longas distâncias, chegando a América Central em 1986 e aos Estados Unidos da América em 1994 (MELLO, et al. 2003; MITCHELL, 2006).

1.4 Importância global

A produção mundial de mel gira em torno de 1,67 milhões de toneladas segundo FAO (2017), sendo a produção brasileira em média 35,36 mil toneladas (ANUALPEC, 2015). Além da produção de mel a apicultura também possibilita a exploração de própolis, pólen, cera, apitoxina e geleia real, que apresentam importância farmacêutica, nutricional e gera empregos para milhares de cidadãos (CUNHA, 2013).

Na produção agrícola, as abelhas *A. mellifera* são indispensáveis devido a sua alta dependência de polinizadores, (KLEIN et al., 2007), aumentando em 80% a produção de sementes em espécies como a maçã e o melão (WITTER e BLOCHTEIN, 2003) e melhorando qualidade do fruto (KLATT et al., 2014). Mundialmente, em torno de 1500 culturas são dependentes de insetos para a polinização (KLEIN et al., 2007), sendo as abelhas *A. mellifera* destaque pela sua eficiência, ampla distribuição, possibilidade de manejo e transporte de colmeias (HANLEY et al., 2015). O valor da polinização realizada pelas abelhas para a agricultura mundial é estimado em 200 bilhões de dólares por ano (LEBUHN et al., 2013).

Além disso, as abelhas contribuem diretamente para a manutenção de ecossistemas, nas áreas de vegetação nativas, a polinização que garante o sucesso reprodutivo de 63% das espécies vegetais é realizada por estes insetos (OLLERTON et al., 2011).

1.5 Geleia real e as glândulas mandibulares

A geleia real é um alimento rico em proteínas utilizado na nutrição de larvas, abelhas adultas, zangões e rainha (MICHENER, 1974; CRAILSHEIM, 1992; PINTO et al., 2012). É constituída por água (50-60%), açúcares (15%), proteínas (18%), lipídeos (3-6%), minerais (1,5%), além de vitaminas e compostos bioativos, incluindo proteínas antimicrobianas, ácidos graxos e ácidos trans-10-hidroxi-2-decenoico (10-HDA) (NAGAI e INOUE, 2004).

Na colmeia a geleia real é o principal alimento de larvas jovens e rainha, essa alimentação está relacionada à diferenciação de castas, inibindo o desenvolvimento dos ovários nas abelhas operárias e aumentando longevidade e fertilidade da rainha.

As abelhas operárias na fase de nutriz (três a doze dias de idade) são responsáveis pela produção de geleia real, que é produzida e secretada por duas glândulas denominadas hipofaringeanas e mandibulares (PINTO et al., 2012). As glândulas mandibulares secretam o ácido 10-hidroxicenoico e a glândula hipofaringeana é responsável por secretar uma substância proteica que, juntas se complementam e formam a geleia real. Essas glândulas se localizam na cabeça das abelhas, são estimuladas pelo feromônio liberado pela cria (DESEYN e BILLEN 2005) e se desenvolvem por completo se o consumo de proteína pelas abelhas operárias for adequado (HRASSNIGG e CRAILSHEIM, 1998).

As glândulas mandibulares são estruturas pares, saculares constituídas por um reservatório rodeado por células secretoras formando um pseudoepitélio e suas secreções são canalizadas até a base da mandíbula por um ducto (figura 2). As secreções provenientes das glândulas mandibulares são ricas em ácido 10-hidroxicenoico (10HDA) utilizado na alimentação de larvas nas primeiras fases de desenvolvimento. Sua capacidade de secreção é avaliada pelo tamanho das células secretoras e área de seu reservatório (CRUZ-LANDIM, 2009).

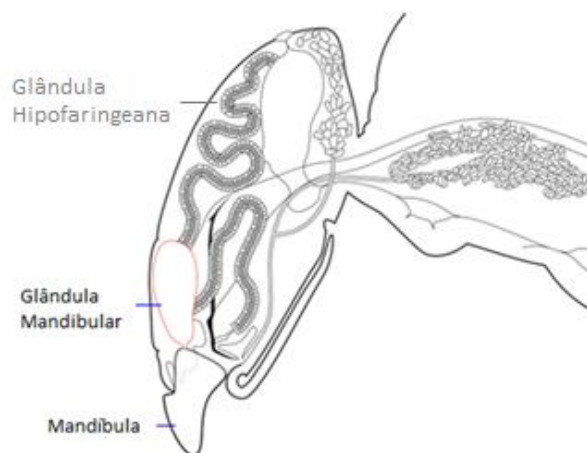


Figura 2. Glândula mandibular e hipofaringeana em *Apis mellifera*. Fonte: <http://honeybee.drawwing.org/book/mandibular-glands-side-view>.

De acordo com Deseyn e Billen (2005) é na idade de seis dias que as abelhas operárias apresentam as glândulas mandibulares e hipofaringeanas mais

desenvolvidas quando comparada com outras fases de desenvolvimento e que a quantidade de secreção liberada é proporcional ao tamanho e número de seus acinos.

A relação entre as glândulas mandibulares e a produção de geleia real é bastante estreita, caso a atividade das glândulas mandibulares for reduzida, o crescimento das larvas e a manutenção da colônia podem ser prejudicados (HEYLEN et al., 2011). Considerando a relação entre a disponibilidade de proteína (pólen) e o desenvolvimento das glândulas mandibulares, torna-se importante avaliar os impactos causados pela escassez de alimento na entressafra floral e o uso de uma ração proteica para as colônias de abelhas *A. mellifera*.

2. Alimentação das abelhas *Apis mellifera*

As abelhas *A. mellifera* possuem uma exigência de nutrientes comum a todas as espécies animais: carboidratos, proteína, lipídeos, vitaminas, minerais e água. A fonte de alimentos das abelhas melíferas se resume em néctar e pólen. O néctar é a fonte de energia (carboidratos) e o pólen fonte de proteínas, minerais, vitaminas e lipídeos (COUTO, 1996).

O pólen é constituído de 10 a 36% de conteúdo proteico, 20 a 40% de carboidratos, 30% de água, 1 a 20% de lipídios e 1 a 7% de minerais, além de resinas, vitaminas, enzimas e coenzimas (MORETI, 2006), variando de acordo com sua origem botânica. O consumo de pólen está intimamente relacionado ao desenvolvimento de glândulas e acúmulo de gorduras corporais (CAMPANA e MOELLER, 1977; MARCHINI et al., 2006).

As abelhas necessitam de 10 aminoácidos essenciais: arginina, histidina, lisina, triptofano, felinamina, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina, todos fornecidos pelo pólen. Uma dieta deficiente em qualquer um desses aminoácidos pode gerar sintomas específicos de deficiência, uma vez que as abelhas não poderão sintetizar as proteínas correlacionadas (HAYDAK, 1970).

A necessidade proteica dos enxames é estimada em aproximadamente 25% de proteína bruta (MANNING, 2016); porém, as abelhas operárias campeiras

selecionam à campo o tipo e quantidade de alimento a ser coletado, podendo variar para atender as exigências nutricionais da colmeia ao longo do dia (FREE, 1980).

A proteína desempenha um papel essencial na colônia e sua quantidade disponível é fator limitante para o crescimento e manutenção do enxame (AMDAM 2010). A produção de mel, longevidade das abelhas operárias e área de cria também diminuem quando a proteína é escassa. (HERBERT e SHIMANUKI, 1978; WINSTON et al., 1983; MATTILA e OTTIS, 2006).

Durante os primeiros seis dias de vida adulta, são consumidas grandes quantidades de pólen por abelhas nutrizas, a fim de se obter um nível adequado de proteínas e aminoácidos para completar o crescimento das crias e desenvolvimento das glândulas produtoras de geleia real (CRAILSHEIM, 1989). A má nutrição proteica prejudica o desenvolvimento das glândulas mandibulares e hipofaríngeas de abelhas operárias jovens (DEGRANDI-HOFFMAN et al., 2010).

A deficiência de proteínas nas colônias pode modificar a divisão de trabalho de abelhas operárias, fazendo com que abelhas com idade inferior a 21 dias iniciem a colheita de recursos no campo. Esta alteração nas tarefas das operárias pode diminuir a longevidade de 50 para 19 dias (SCHMIDT et al., 1995).

Em épocas de escassez de néctar e pólen é comum os apicultores perderem seus enxames, que, enfraquecidos pela falta de alimento na região migram à procura de maior oferta de alimento (MARCHINI et al., 2006). Dessa forma, torna-se essencial o fornecimento de suplementos para a manutenção do enxame e fortalecimento em períodos precedentes a florada, para otimizar a produtividade (PAULINO, 2013).

O fornecimento de substitutos de pólen ajuda a melhorar o desempenho da colônia (HERBERT, 1992). HERBERT e SHIMANUKI (1978) definiram substituto de pólen como qualquer material fornecido às colônias que supre as necessidades proteicas por um curto período de tempo.

O suplemento proteico é oferecido nas formas de farelo ou pasta e pode ter caráter de subsistência, quando há falta de alimentação natural, ou estimulante, em períodos antecedentes a florada para o fortalecimento dos enxames (SOMERVILLE, 2005; WOLFF, 2007). Além disso, a suplementação adequada reduzirá as chances de enxameação das colônias (LEGLER, 2000).

A alimentação estimulante deve ser oferecida dois meses antes do início

da florada, pois a entrada de alimento estimulará a oviposição da rainha, e subsequente aumento de operárias no período de produção apícola (WOLFF, 2007). É necessário, também, que os apicultores tomem os devidos cuidados na escolha correta dos substitutos do pólen, visando a formulação ideal da dieta, tempo de deterioração, estocagem e atratividade para as abelhas (HERBERT e SHIMANUKI, 1977).

O próprio pólen pode ser usado para suplementar os enxames, mas seu custo se torna muito alto e pode onerar o apicultor, por isso, alimentos alternativos de menor custo como soja, trigo, farelo de milho, sorgo, levedura de cana-de-açúcar, farinha láctea e ternero (sucedâneo para bezerros) se tornam opções mais vantajosas para substituir o pólen (CREMONEZ et al., 1998; LENGLER, 2000). Alguns apicultores optam por produtos regionais para a suplementação de seus enxames como feno de mandioca, farinha de vagem de algaroba ou farelo de babaçu (PEREIRA et al., 2006)

Diante deste contexto, o objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito da suplementação proteica em diferentes níveis no desenvolvimento das glândulas mandibulares de abelhas operárias nutrizas com 6 dias de idade.

A presente pesquisa resultará no capítulo II, artigo intitulado “**Ração proteica estimula o desenvolvimento das glândulas mandibulares de abelhas *Apis mellifera***”, o qual será submetido à revista “**Apidologie**”, conforme as suas regras de publicação.

3. Referências

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.

ANUALPEC. **Anuário estatístico da pecuária de corte**, São Paulo: FNP Consultoria e Comércio Ltda. São Paulo, p. 224, 2015.

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.

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.

CREMONEZ, T. M.; D. DE JONG; M. M. G. BITONDI. Quantification of hemolymph proteins as a fast testing protein diets for honey bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, New York, v.91, p.1284-1289, 1998.

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 08 mar. 2018.

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

DEGRANDI-HOFFMAN, G.; CHEN, Y.; HUANG, E.; HUANG, M. H. The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology**, Kidlington, v. 56, p. 1184–1191, 2010.

DESEYN, J.; BILLEN, J. Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (hymenoptera, Apidae). **Apidologie**, Paris, v.36, p. 49-57, 2005.

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

FREE, J. B. The social organization of honeybees. **Editoria Pedagogica e Universitaria**. 1980.

GONÇALVES, L. S. Africanized honey bee: introduction, adaptation and benefits. In: INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS. **Proceedings**. Durban, v.31. p.1-3. 2001.

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

HALBERSTADT, K. Elektrophoretische untersuchungen zur sekretionstatigkeit der hypopharynxdruse der honeigbiene *Apis mellifera* L. **Insects Sociology**, Guyancourt, v.27, n.1, p. 61-77, 1980.

HANLEY, N. et al., Measuring the economic value of pollination services: Principles, evidence and knowledge gaps. **Ecosystem services**, Amsterdam, v.14, p. 124-132, 2015.

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

HERBERT JR., E. W. **Honey Bee Nutrition**. In *The Hive and The Honey Bee*. Dadant & Sons. Hamilton, Illinois, p.197-233, 1992.

HERBERT JR., E. W.; H. SHIMANUKI; D. CARON. Optimum protein levels required by honey bees (Hymenoptera: Apidae) to initiate and maintain brood rearing. **Apidologie.**, Paris, v.8, p.141-146, 1977.

HEYLEN, H. et al. The effects of four crop protection products on the morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of the European honeybee, *Apis mellifera*. **Apidologie**, Paris, v. 42, n.1, p. 103-116, 2011

HRASSNIGG, N.; CRAILSHEIM, K. Adaptation of hypofaryngeal gland development to the brood status of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. **Journal of Insect Physiology**, Kidlington, v.44, n.10, p. 929-949, 1998.

KENNEDY, M. C. et al. A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. **Ecology Letters**, Chichester, v. 16, p.584-599, 2013.

KLATT, K. B.;HOLZSCHUH, A.;WESTPHAL, A.; CLOUGH, Y.;SMIT, I.; PAWELZIK, E.; TSCHARNTKE T. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. **Proceedings of The Royal Society B**, London, p. 281, 2014.

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.

LANDIM, C. C. Abelhas: morfologiae função de sistemas. São Paulo: **Ed. UNESP**, São Paulo, p.408, 2009.

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

LENGLER, S. Alimentação artificial de abelhas. **Anais do XIII Congresso Brasileiro de Apicultura**, Florianópolis, SC, p.98-102, 2000.

MANNING, R. Artificial feeding of honeybees based on na understanding of nutritional principles. **Animal Production Science**. Clayton, v.56, p.1-15, 2016.

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.

MATTILA, H R; OTIS, G W Effects of pollen availability and *Nosema* infection during the spring on division of labour and survival of worker honey bees (Hymenoptera : Apidae). **Environmental Entomology**, Cary, v.35, p. 708-717, 2006.

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.

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

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 maio de 2017

NAGAI, T.; INOUE, R. Preparation and functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.84, p. 181-186, 2004.

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.

PAULINO, F. D. G. **Apicultura-Manual do agente de desenvolvimento rural: Alimentação artificial**. Brasília: Sebrae, Brasília, cap.13, p. 107-114, 2004

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.

POTTS, S. G. et al. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**, Kidlington, v. 25, n.6, p. 345-353, 2010.

SCHMIDT, L.S.; SCHMIDT, J. O.; RAO, H.; WANG, W.; XU, L. Feeding preference and survival of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame, and sunflower pollen. **Journal of Economic Entomology**, Cary, v.88, p.1591–1595, 1995.

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

SOMERVILLE, Doug. Fat Bees Skinny Bees. A manual on honey bee nutrition for beekeepers. **Australian Government Rural Industries Research and Development Corporation**, Goulburn, p. 1-142, 2005.

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.

VÁSQUEZ, A. & OLOFSSON, C. T. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. **Journal of Apicultural Research**, Abingdon, v.48, p.189-195, 2009.

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

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

WITTER, S. & BLOCHTEIN, B. Effect of pollination by bees and other insects on the production of onion seeds. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 38, n. 12, p. 1399-1407, dez. 2003

WOLFF, L.F. **Alimentação de enxames em apicultura sustentável**. Pelotas: Circular Técnica nº 63, 2007. Disponível em: <
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/746049/1/Circular63.pdf>>
. Acesso em: 23 de Maio de 2017

CAPÍTULO II

Ração proteica estimula o desenvolvimento das glândulas mandibulares de abelhas
Apis mellifera L.

Resumo

Foram utilizadas 12 colônias distribuídas de forma aleatória e divididos entre 4 grupos experimentais, com 3 repetições cada: P0, P23, P25 e P27, contendo 0, 23, 25 e 27% de proteína bruta (PB) na ração, respectivamente. Foram fornecidos 30 gramas de cada ração por enxame a cada 3 dias durante o período de 36 dias. Ao final do período experimental, foram coletadas 10 abelhas de cada tratamento com seis dias de idade para análises morfológicas da glândula mandibular (GM). Observou-se aumento significativo na área da GM para os grupos que receberam ração proteica, em relação ao P0. Com relação à altura da célula secretora da GM, todos os enxames que receberam ração proteica apresentaram aumento significativo em relação ao P0; entretanto, o grupo P23 promoveu aumento significativo da altura da célula secretora em relação aos demais grupos. Na análise de regressão, o nível ideal de proteína na ração para o desenvolvimento da GM é de 22,2% PB. Pode-se concluir que o uso de ração proteica promove aumento da área do reservatório e altura da célula secretora da glândula mandibular em abelhas operárias com seis dias de idade.

Palavras-chave: apicultura, nutrição, proteína, suplementação, morfologia, geleia real.

1. Introdução

As abelhas *A. mellifera* dependem exclusivamente do alimento proveniente do campo para suprir suas demandas fisiológicas, sendo o néctar o alimento de fonte energética e o pólen de fonte proteica, vitamínica e mineral (Marchini et al., 2006; Potts et al., 2016). O pólen é constituído de 10 a 36% de proteína, 20 a 40% de carboidratos, 30% de água, 1 a 20% de lipídios e 1 a 7% de minerais, além de resinas, vitaminas, enzimas e coenzimas (Estevinho et al., 2012) variando de acordo com sua origem botânica.

A proteína desempenha um papel de extrema importância na nutrição das abelhas, principalmente durante os primeiros seis dias da vida adulta, quando as abelhas operárias consomem grandes quantidades de proteína proveniente do pólen para completar o desenvolvimento das glândulas mandibulares e hipofaríngeas, em abelhas jovens (Degrandi-Hoffman et al., 2010). As glândulas mandibulares e hipofaríngeas são responsáveis pela produção de geleia real, alimento de crias jovens e rainhas. Dessa forma, uma dieta deficiente em proteínas pode reduzir a atividade dessas glândulas prejudicando o crescimento de larvas e a manutenção da colônia.

Uma vez que a atividade dessas glândulas for reduzida, o crescimento das larvas e a manutenção da colônia podem ser prejudicados (Heylen et al., 2011). A biossíntese de geleia real depende dos aminoácidos obtidos através da quebra da proteína ingerida pelas abelhas *A. mellifera*, por ação das proteases no interior de seus intestinos (Sagili et al., 2005).

Nos períodos de entressafra floral os recursos disponíveis no ambiente são escassos e comumente ocorre a migração de enxames que se deslocam a procura de maior oferta de alimento, causando perdas consideráveis aos apicultores (Marchini et al., 2006). Sendo assim, a suplementação artificial em períodos de escassez se torna essencial para suprir o fornecimento de nutrientes na manutenção do enxame, estimular a postura da rainha e aumentar a produtividade (Paulino, 2013; Carrillo et al., 2015).

A necessidade proteica das colônias é estimada em aproximadamente 25% de proteína bruta quando analisadas no laboratório (Manning et al., 2016), entretanto, os dados sobre a necessidade à campo para o desenvolvimento ideal das glândulas mandibulares são escassos. Neste sentido, é importante estudar os fatores nutricionais que afetam o desenvolvimento das glândulas mandibulares em abelhas nutrízes para elaboração de estratégias de suplementação. Assim, o objetivo do presente trabalho foi analisar os efeitos de rações proteicas com diferentes níveis de proteína (0, 23, 25 e 27%

de proteína bruta) no desenvolvimento das glândulas mandibulares de abelhas nutrizas com 6 dias de idade.

2 Material e Métodos

2.1 Local do experimento

O estudo foi realizado em um apiário experimental localizado nas coordenadas geográficas do local do experimento: 22° 49' de latitude sul e 48° 24' de longitude Oeste, com clima tipo Cfa e altitude média de 623 metros.

2.2 Grupos experimentais

Foram utilizadas 12 colônias de abelhas *A. mellifera* africanizadas, padronizadas (quanto ao número de quadros de cria e alimento) e distribuídas em 4 grupos experimentais com 3 repetições cada: P0: controle; P23: ração contendo 23% de proteína bruta (PB); P25: ração contendo 25% de PB e P27: ração contendo 27% de PB.

A tabela 1 traz a composição das rações utilizadas:

Tabela 1. Composição das rações contendo diferentes níveis proteicos.

Grupos experimentais			
Ingredientes	23%	25%	27%
Amido de milho	19,45	14,67	6,00
Protenose	12,00	15,00	10,00
Farelo de Soja (45%)	61,72	64,26	77,85
Açúcar	0,83	0	0,20
Óleo	6,00	6,07	5,95
TOTAL	100,00	100,00	100,00
Xarope de mel*	16 mL	16 mL	16 mL
Níveis nutricionais analisados ¹			
Energia Bruta (kcal/kg)	4.183	4.183	4.183
Prot. Bruta (%) *	32,31	35,40	38,40

¹ Níveis nutricionais calculados segundo Rostagno et al., (2017).

* A ração fornecida (30g) foi diluída em 16 ml de xarope de mel (100 ml de água e 20 g de mel) para que se tornasse palatável pelas abelhas e alcançasse os níveis proteicos propostos.

A ração proteica foi fornecida na quantidade de 30 gramas por enxame, em placas de petri, posicionadas embaixo dos quadros a cada 3 dias durante todo o período

experimental (36 dias), na entressafra. Para confirmação dos níveis proteicos foram feitas análises bromatológicas das rações (ração mais xarope) (Tabela 2).

Tabela 2. Análise bromatológica das dietas com diferentes níveis proteicos

Grupos experimentais	%PB	EB Kcal/g	%MS
P23	22,8	3541,0	76,9
P25	24,8	3517,0	76,9
P27	26,3	3561,0	77,3

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da UNESP – FMVZ, Campus de Botucatu.

2.3 Colheita de pólen

Durante todo o período experimental foram instalados, semanalmente, no alvado de duas colmeias de cada grupo experimental coletores de pólen tipo frontal. O pólen colhido foi armazenado em freezer (-20°C) e ao final do período experimental as amostras de pólen de cada grupo foram misturadas, homogeneizadas manualmente para as análises de proteína bruta e matéria seca.

2.4 Avaliação do consumo da ração

A cada três dias, o consumo da ração foi mensurado a partir da diferença de peso entre a ração inicial ofertada (30 gramas) e a sobra na placa de petri. Para o cálculo do consumo efetivo de proteína pelos grupos experimentais, determinou-se o teor proteico presente em 30 gramas de ração ofertada aos enxames e, a partir da porcentagem média de ração consumida pelos enxames ao longo do período experimental, obteve-se o teor proteico real consumido pelos enxames. Acrescentou-se a este teor proteico, o valor de proteína bruta presente no pólen coletados dos enxames, nos diferentes grupos experimentais. Os resultados representam as médias do fornecimento total de ração durante os 36 dias de experimento, que foi de 360 gramas, divididos em 12 lotes fornecidos a cada três dias.

2.5 Análises morfológicas

A coleta das abelhas foi baseada na metodologia descrita por Oliveira (2013). Após 36 dias do fornecimento de ração proteica foram coletadas 20 abelhas operárias com seis dias de idade de cada grupo experimental. Para isso, foram retirados 2 quadros com cria operculada de cada tratamento e, em seguida, estes quadros foram envolvidos individualmente em tecido filó e alocados em estufa com umidade e temperatura controlada (60% e 30° C).

As operárias recém emergidas foram marcadas na região do pronoto com tinta atóxica (Posca Paint Pens®, Lápiz Mitsubishi, Japão) e reintroduzidas nas suas respectivas colmeias de origem. Após 6 dias as abelhas foram coletadas com auxílio de pinça entomológico, armazenadas em tubos plásticos e eutanasiadas (anestesiadas em CO₂ e decapitadas com lâmina de bisturi). Em seguida suas cabeças foram fixadas em formaldeído a 4% dissolvido em tampão fosfato 0,1 M pH 7,3 por 24 horas e logo após, foram lavadas em água corrente e armazenadas em álcool etílico a 70%.

2.5.2 Confeção das lâminas histológicas

Para as análises histológicas foi utilizado o método descrito por Smodiš-Škerl e Gregorc (2010). As cabeças das abelhas foram desidratadas em séries crescentes de etanol (70%-95%), embebidos em resina (HistoResin®, Leica, Heidelberg, Alemanha) e incluídos em moldes de polietileno (2 cabeças/bloco) para a confecção dos blocos histológicos.

Os blocos foram processados em cortes semi-seriados, na espessura de 3µm pelo micrótomo rotativo automático (Leica RM2155, Alemanha). Para cada bloco foram produzidos em média 12 lâminas contendo 12 cortes cada. Para cada grupo experimental foi utilizado 5 blocos, sendo que cada bloco era constituído de 2 cabeças, totalizando 20 blocos (5 para cada tratamento). Para corar as estruturas utilizamos os reagentes hematoxilina e eosina.

2.5.3 Morfometria das Glândulas Mandibulares

As imagens foram obtidas a partir de um microscópio (leica DMLB80) com uma câmera digital acoplada (Leica DC300FX) e analisadas utilizando o software de análise de imagem (Leica Q-ein 3.0 para Windows).

Dois parâmetros foram analisados para mensurar o desenvolvimento glandular: altura das células secretoras e área do reservatório das glândulas. Para a área foram utilizadas 80 imagens por bloco (40 por abelha) totalizando 400 imagens por grupo experimental, utilizando-se um aumento de 20x da lente objetiva do microscópio analisador. Para a altura das células secretoras foram utilizadas 10 medidas por imagem, de maneira aleatória. Os resultados da área e altura das glândulas foram expressos em μm para fim de comparação entre os grupos experimentais.

2.6 Análise Estatística

Os resultados referentes ao consumo de ração e morfometria obtidos foram comparados por ANOVA, seguida do teste de Tukey para verificar diferenças entre as médias. Foi considerado como estatisticamente diferente quando $p < 0,05$ (Zar 1996). As análises estatísticas foram feitas pelo software R e as fórmulas de regressão polinomial obtidas através do Microsoft Excel.

3 Resultados

3.1 Avaliação do consumo de ração e proteína consumida

Não foi verificada diferença significativa no consumo efetivo de proteína bruta entre os grupos experimentais ($P < 0,05$). A partir do consumo total de ração dos grupos experimentais, a quantidade de PB consumida em gramas foi: P23: 5,11g de PB; P25: 3,83g de PB e P27: 3,81g de PB. Segundo a análise bromatológica do pólen coletado pelas abelhas durante o período experimental, foi possível observar a presença de 17,48g de PB no grupo controle (P0), enquanto que os grupos experimentais apresentaram 16,11 g, 21,02 g e 19,81 g de PB, respectivamente para P23, P25 e P27. Assim, a quantidade efetiva de PB consumida pelos diferentes grupos experimentais foi obtida pela soma da proteína consumida nas dietas com a proteína presente no pólen (Tabela 3).

Tabela 3. Consumo total das dietas ao término do período experimental (36 dias) (g), proteína bruta consumida pelos enxames (g), proteína presente no pólen (g) e consumo efetivo (g) dos diferentes grupos experimentais.

	P0	P23	P25	P27
Consumo total das dietas (g)	0	269,3	185,4	173,88
PB consumida pelos enxames (g)	0	5,11	3,83	3,81
PB do pólen coletado (g)	17,48	16,11	21,02	19,81
Consumo efetivo de proteína (g)	17,48	21,22	24,85	23,62

3.2 Morfometria das glândulas mandibulares (GM)

Os grupos experimentais que receberam a suplementação proteica (P23, P25 e P27) apresentaram maior aumento para a área do reservatório ($P < 0,05$) (Figuras 1 e 2) e altura das células secretoras da GM (Figuras 3 e 4), comparados ao controle. Os enxames suplementados com ração contendo 23% de PB apresentaram a maior altura da célula secretora, em relação aos demais grupos experimentais (Figura 3 e 4).

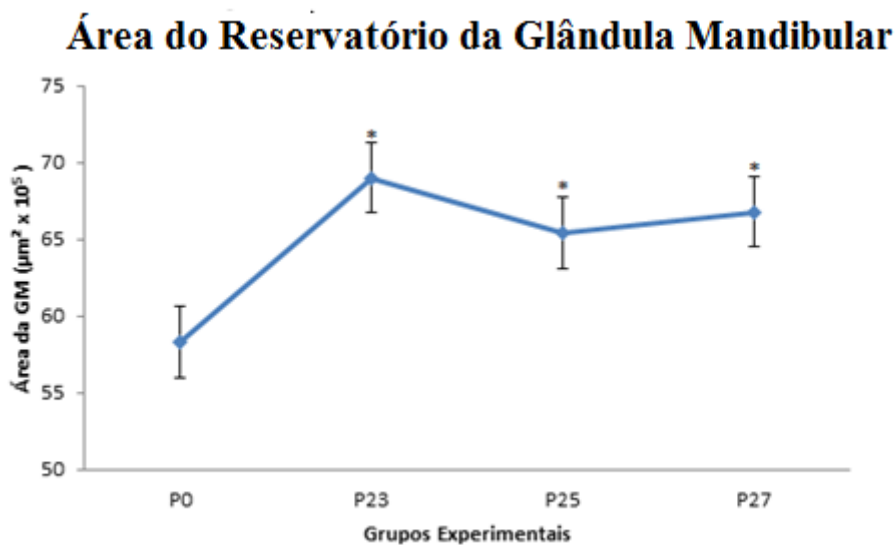


Figura 1. Área do reservatório da glândula mandibular (μm^2) em função da suplementação proteica (0, 23, 25 e 27% de proteína bruta) dos enxames experimentais.

* Diferença estatística em relação ao controle pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

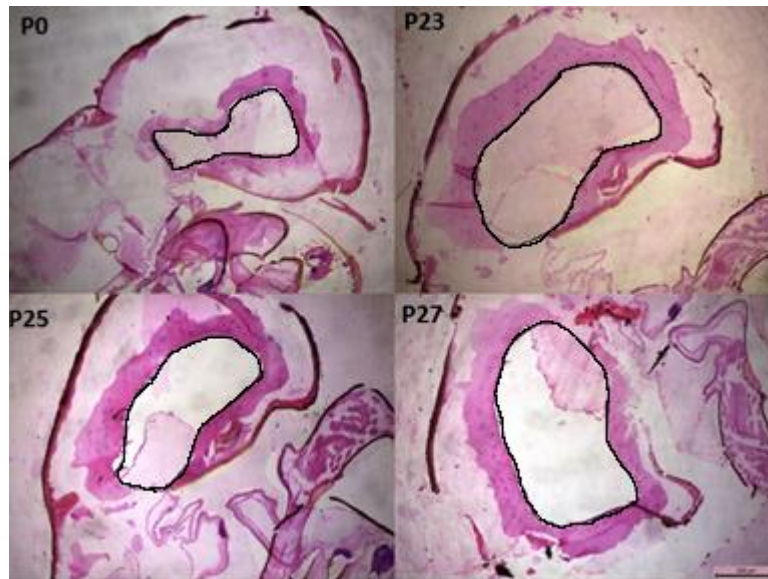


Figura 2. Fotomicrografia representativa da média de área do reservatório glândula mandibular de abelhas *A. mellifera* com 6 dias de idade. P0: controle; P23: 23% de PB; P25: 25 % de PB e P27: 27% de PB. A linha preta representa a área da glândula. Lente objetiva com aumento de 20x.

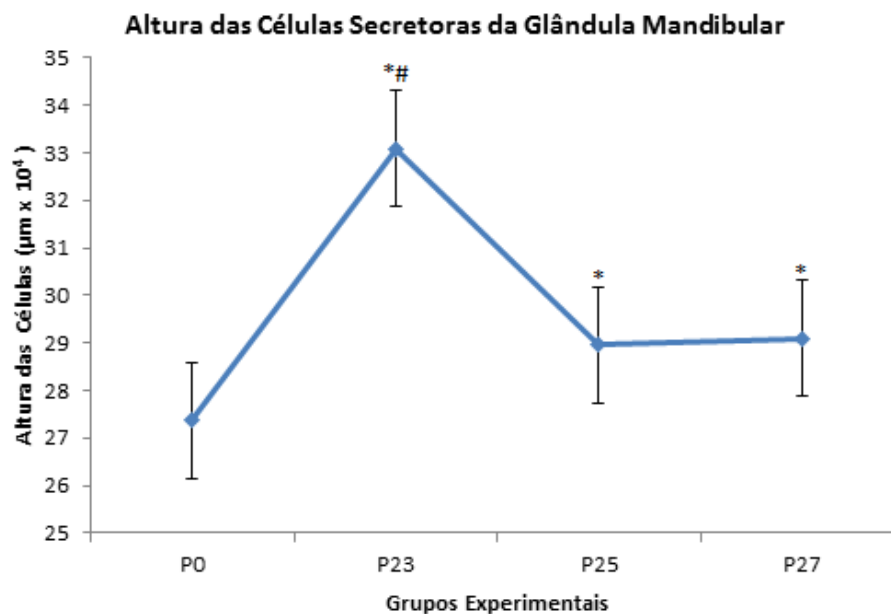


Figura 3. Altura da célula secretora da glândula mandibular (μm^2) de abelhas *A. mellifera* com 6 dias de idade em função da suplementação proteica (0, 23, 25 e 27% de proteína bruta) dos enxames experimentais. * Difere estatisticamente em relação ao controle pelo

teste de Tukey ($p < 0,05$). # Difere estatisticamente em relação aos demais grupos experimentais pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

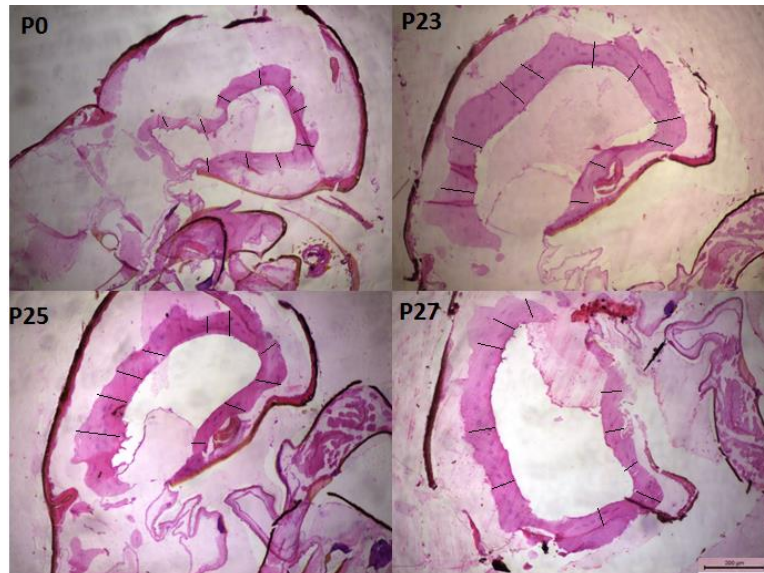


Figura 4. Fotomicrografias representativas da altura da célula secretora (μm) da glândula mandibular de abelhas *A. mellifera* com 6 dias de idade. P0: controle P23: 23% de PB; P25: 25 % de PB e 27: 27% de PB. Os traços pretos representam a altura das células secretoras. Lente objetiva com aumento de 20x.

A partir da regressão polinomial para a área do reservatório da GM ($y = -0,4682x^2 + 20,654x - 159,09$ $R^2 = 0,9849$) foi estimado o nível ideal de PB para o máximo desenvolvimento, sendo de 22,1 % de PB (Figura 5). Em relação à altura do reservatório da GM ($y = 1,6024x^2 + 71,389x - 475,52$ $R^2 = 0,7025$) o ponto ideal foi de 22,3% de PB (Gráfico 2). Sendo assim, o valor médio de PB estimado para o máximo desenvolvimento da GM é de 22,2%.

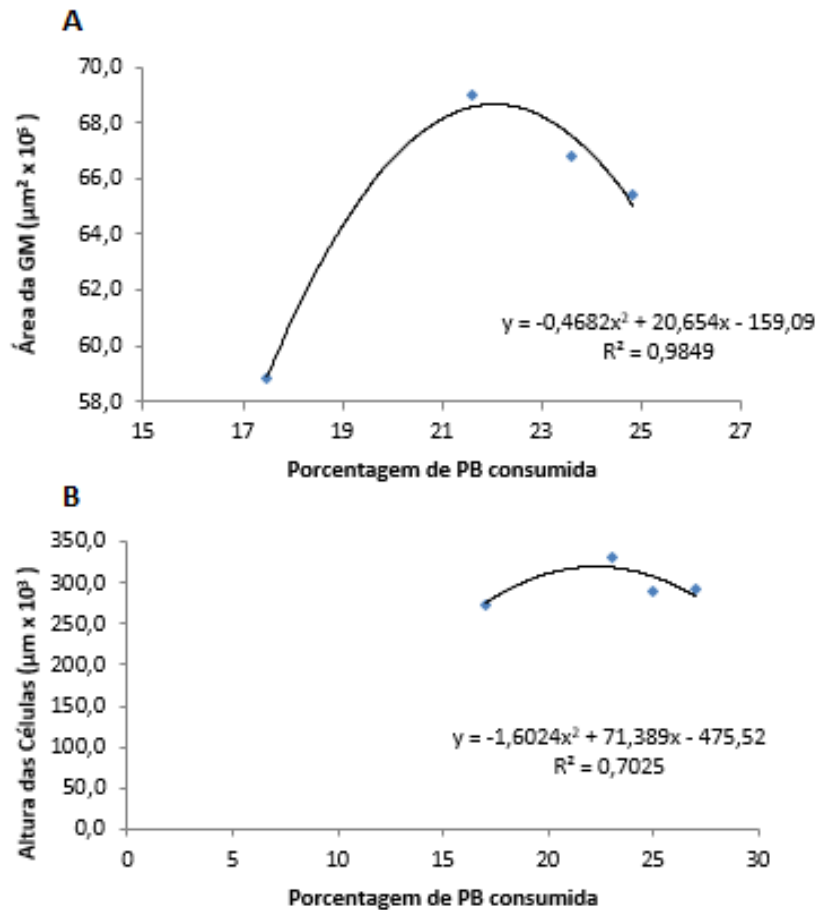


Figura 5. A. Regressão polinomial referente à área do reservatório da glândula mandibular (μm^2).
 B. Regressão polinomial referente à altura da célula secretora (μm).

4 Discussão

Neste estudo verificou-se que abelhas nutrizas com 6 dias de vida suplementadas com 23% de PB tiveram suas G.M. mais desenvolvidas, ou seja, células secretoras mais altas e maior área do reservatório da glândula, quando comparadas à abelhas que consumiram 0, 25 e 27% de PB.

O consumo efetivo de PB pelas colônias que receberam ração proteica foi semelhante, sugerindo que as balancearam sua necessidade proteica, que é em torno de 25% de PB (Manning, 2016), uma vez que o pólen colhido variou entre 16,11 e 21,02% de PB. Embora as abelhas busquem no pólen suas necessidades de PB, o mesmo pode variar de acordo com a origem botânica do pólen e a localização do apiário. (Zhang et al., 2014).

As abelhas necessitam de 10 aminoácidos essenciais, sendo arginina, histidina, lisina, triptofano, felinamina, metionina, treonina, leucina, isoleucina e valina, todos fornecidos pelo pólen. Uma dieta deficiente em qualquer um desses aminoácidos pode gerar pode prejudicar o bom desenvolvimento do enxame como um todo, uma vez que as abelhas não poderão sintetizar suas proteínas (Haydak, 1970). Sendo assim, os ingredientes utilizados para a formulação da ração proteica utilizada neste experimento possuem os aminoácidos essenciais necessários, suprimindo as necessidades das abelhas (Ost et al., 2007). Desta forma, o fornecimento de ração proteica pode ser uma ferramenta interessante para o apicultor, uma vez que a dieta equilibrada pode auxiliar no desenvolvimento destes insetos (Behmer, 2009).

Ao final do período experimental, observou-se que os grupos que receberam a ração proteica apresentaram aumento significativo na área do reservatório e altura da célula secretora, sugerindo que a proteína oferecida modulou positivamente o desenvolvimento da GM. Este resultado reforça que quantidade de alimento consumido pelas abelhas operárias está associada com o desenvolvimento das GM (Schmidt et al. 1987) e que o adequado aporte proteico é essencial para o bom desenvolvimento dos enxames, uma vez que a proteína atua como constituinte estrutural e funcional dos tecidos (Crailsheim 1990, Zerbo et al. 2001, Hoover et al. 2006).

O tamanho das GM está diretamente relacionado à sua atividade, ou seja, quanto maior sua área e altura, maior sua secreção. Sendo assim, pressupõe-se que a geleia real produzida possua quantitativamente e qualitativamente, nutrientes essenciais para a nutrição de crias jovens e abelha rainha (Babendreier et al. 2005; Skerl e Gregorc, 2010) e, conseqüentemente, auxiliaria no desenvolvimento do enxame.

Por meio da análise de regressão para área do reservatório ($y = -0,4682x^2 + 20,654x - 159,09$ $R^2 = 0,9849$) e altura da célula secretora ($y = -1,6024x^2 + 71,389x - 475,52$), estimou-se o nível ótimo de suplementação proteica de 22,3%, para o ótimo desenvolvimento da GM. Entretanto, observa-se pela equação de regressão que na medida em que o teor de PB aumenta, o desenvolvimento da GM tende a ser reduzido. Este resultado seria condizente com Herbert e Shimanuki (1977), os quais sugerem que a proteína ingerida em excesso por abelhas *A. mellifera*, pode ser tóxica, atrapalhando na digestão e reduzindo a absorção de nutrientes (Archer et al. 2014).

Os valores de necessidade de PB encontrados neste trabalho são próximos aos encontrados na literatura para o desenvolvimento de área de cria que foi de 23 a 30% de

PB (Herbert e Shimanuki 1977) e longevidade e de peso estimado das glândulas hipofaríngeas, que foi de 25% (Manning, 2016), ambos em condições laboratoriais. Entretanto, neste estudo a suplementação proteica ocorreu em condições de campo, onde as colônias tinham acesso ao pólen existente nas proximidades do apiário, mostrando a capacidade das abelhas em equilibrarem sua dieta para atenderem as suas exigências nutricionais. Por outro lado, Zheng et al. (2014) propuseram que as colônias a campo necessitam de 29,5 a 34,0% de proteína bruta, ao analisarem o efeito da suplementação proteica no desenvolvimento da glândula hipofaríngea no início da primavera; este resultado é superior ao obtido nas condições deste experimento, provavelmente por ter sido realizado em diferente época do ano (entressafra) e não na estação da primavera, onde os enxames devem possuir acesso a maior diversidade de recursos alimentares.

Este estudo demonstra que o fornecimento de ração proteica em períodos de escassez afeta significativamente o desenvolvimento das GM de abelhas *A. mellifera*, podendo ser utilizado como ferramenta para auxiliar a manutenção e desenvolvimento das colônias, garantindo maior produtividade para o apicultor. Com base neste estudo recomenda-se como nível ideal 22,2% de PB para o desenvolvimento das GM em períodos de entressafra.

4 Conclusão

Conclui-se que o fornecimento de ração proteica estimula o desenvolvimento da glândula mandibular de abelhas *A. mellifera* operárias na fase de nutriz, sendo a necessidade proteica, para o máximo desenvolvimento desta glândula, estimada em 22,2% de proteína bruta.

5 Referências bibliográficas

- Babendreier, D.; et al. (2005) Influence of Bt-transgenic pollen, Bt-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees. *Apidologie*, v. 36, n. 4, p. 585-594
- Behmer ST (2009) Insect herbivore nutrient regulation. *Annu Rev Entomol* v. 54 p.165–187
- Carrillo, M.P., Kadri, S.M., Veiga, N., Orsi, R.O. (2015) Energetic feedings influence beeswax production by *Apis mellifera* L. honeybees. *Acta Scientiarum*. 37, 1

- Crailsheim, k. (1990) The protein balance of the honey bee worker. *Apidologie*, v.21, p.417-429, 1990.
- Degrandi-hoffman, G.; chen, Y.; huang, E.; huang, M. H. (2010) The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera L.*). *Journal of Insect Physiology*, v. 56, p. 1184–1191
- Estevinho, L. M. et al. (2012) Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. *Int. j. food. Sci tech.* v. 47, p. 429-435.
- Harmen, P. H.1; Sharoni, S. (2016) Honey bee foragers balance colony nutritional deficiencies. *Behav Ecol Sociobiol* 70:509–517
- Haydak, M.H. (1970) Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology*, v. 15, p. 143-146,.
- HERBERT JR., E. W.; SHIMANUKI, H. (1977) Chemical composition and nutritive value of bee collected and bee-stored pollen. *Apidologie*. v.9, n.1, p.33-40, 1977
- Heylen, H. et al. (2011) The effects of four crop protection products on the morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, v. 42, n.1, p. 103-116
- Hoover, S.E.R., Higo, H.A., Winston, M.L., (2006). Worker honey bee ovarian development: seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *Journal of Comparative Physiology B* 176, p. 55–63.
- Manning, R. (2016) Artificial feeding of honeybees based on na understanding of nutritional principles. *Animal Production Science*. v.56, p.1-15
- Marchini, L.C., Reis, V.D.A., Moreti, A.C.C.C. (2006) Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Ciênc. Rural*. 36 (3), 949-953
- Moretti, A. C. C. C. (2006) Pólen: Alimento protéico para as abelhas: Complemento alimentar para o homem. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/Polen/index.htm>. Acesso em: 23 de maio de 2017
- Oliveira, M.E.C. (2013) Polietismo e detecção de vírus deformador de asas em abelhas *Apis mellifera scutellata* (Africanizada) e *Apis mellifera ligustica* (Europeia). Tese (Doutorado em Ciências/ Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 178

- Ost, P. R. et al. (2007) Aminoácidos digestíveis verdadeiros de alguns alimentos protéicos determinados em galos cecotomizados e por equações de predição. R. Bras. Zootec., v.36, n.6, p.1820-1828
- Paulino, F. D. G. (2004) Apicultura-Manual do agente de desenvolvimento rural: Alimentação artificial. Brasília: Sebrae, cap.13, p. 107-114
- Potts, S.G. et al. (2016) Safeguarding pollinators and their values to human well-being. Nature. 540, 220–229
- Rostagno, H.S. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2ª ed. Viçosa: UFV, 2017. 186p.
- Sagili, R. R., T. Pankiw, and K. Zhu-Salzman. (2005). Effects of soybean trypsin inhibitor on hypopharyngeal gland protein content, total midgut protease activity and survival of the honey bee (*Apis mellifera* L.) Insect Physiol. 51: 953–957.
- Smolis-Skerl, M.I., Gregorc, A. (2010) Heat shock protein and cell death in situ localization in hypopharyngeal glands of honeybee (*Apis mellifera carnica*) workers after imidacloprid or coumaphos treatment. Apidologie. 41, 73-86
- Zar, J.H. (1996) Bioestatistical analysis. New Jersey: Prentice Hall. 718
- Zheng, B. et al. (2014) The effects of dietary protein levels on the population growth, performance, and physiology of honey bee workers during early spring. Journal of insect science. 14, 191
- Zerbo, A. C.; Moraes, R. L. M. S.; Brochetto-Braga, M. R. (2001) Protein requirements in larvae and adults of *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae): midgut proteolytic activity and pollen digestion. Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology, v.129, p.139-147;

CAPÍTULO III

Implicações

Constatou-se que durante o período de entressafra floral a suplementação proteica em níveis adequados *modula* positivamente o desenvolvimento das glândulas mandibulares de abelhas *A. mellifera*, aumentando a área de seu reservatório e altura das células secretoras. A suplementação proteica é uma técnica de manejo utilizada por apicultores recentemente, porém, não é senso comum uma dieta padrão ofertada aos enxames. Desta forma o estudo do nível proteico adequado na dieta destas abelhas é de suma importância para a apicultura em âmbito nacional e internacional.

Devido a escassez de informações sobre nutrição de abelhas *A. mellifera*, este experimento contribuirá sugerindo o teor de proteína bruta ideal que as abelhas de 06 dias de idade devem consumir para que atinjam o máximo desenvolvimento de suas glândulas mandibulares, aumentando assim a secreção de componentes da geleia real e, conseqüentemente, aumentando a disponibilidade de alimento para as abelhas jovens e rainha, crescendo o número de indivíduos na colônia e elevando a produtividade.